

03068  
2  
2ij

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

INSTITUTO DE FISILOGIA CELULAR

PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS FISILOGICAS  
DE LA UNIDAD ACADEMICA DE CICLOS PROFESIONALES  
Y DE POSGRADO



**PATRONES CIRCADICOS DE LA CONDUCTA DE  
INGESTA DE ALIMENTO Y DE ACTIVIDAD  
ESPONTANEA EN RATAS SOMETIDAS A  
MALNUTRICION CRONICA**

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS FISILOGICAS**

P R E S E N T A :

**IVETTE CALDELAS SANCHEZ**

DIRECTORA DE TESIS: DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

**Esta tesis se la dedico a esos dos maravillosos  
seres que han estado conmigo en cada momento  
de esta perenne odisea...**

**Gracias por su inagotable paciencia y comprensión  
de todos estos años.**

**Enrique y Güerita**

## *Agradecimientos*

---

A Paulette, Igor, Ivonne, Janette, Yosette y Ashley, por estar conmigo compartiendo cada momento, por su apoyo y cariño incondicional.

A la Sra. Mercedes Villaseñor del Pozo, por que tan solo su presencia siempre es reconfortante, por todas sus palabras de aliento durante los momentos difíciles.

A mis queridos amigos de todos estos años Esther y Raúl, con los que siempre e incondicionalmente he contado.

A Mayra e Hiram por su amistad y sus enseñanzas que no se sujetaron únicamente a los programas de estadística o de biología molecular. Y a Hiram Jr. por hacer tan felices a estos primeros.

Al Niño Adolfo por la lata intensamente proporcionada durante estos años de amistad.

A Beto, José Luis, Daniel, Arturo, Tornerini y los Alejandros, por hacer de cada día de trabajo algo muy peculiar.

A Jarvis por toda la ayuda técnica para la elaboración de este escrito y su incommensurable paciencia.

A mi subversivo amigo Jorge, por todas esas reveladoras charlas y por darme la oportunidad de conocer casi de manera íntima, la manera tan surreal que la "caja negra" insanamente nos roba la objetividad y la paciencia.

A Loui por su ayuda en la elaboración de este escrito y por esta sui generis amistad.

A los integrantes del jurado del examen:

Dr. León Cintra McGlone  
Dra. Li Mei Zhang  
Dr. Raúl Aguilar Roblero  
Dra. Carolina Escobar Briones  
Dra. Robin Hudson

... por todos sus comentarios, que siempre se distinguieron por poseer un alto contenido académico.

A la Dra. Carolina Escobar por haberme permitido colaborar con ella durante estos años y por la confianza que depositó en mí.

Al Dr. Raúl Aguilar Roblero, por haberme proporcionado un espacio en su grupo y brindarme la posibilidad de concluir este trabajo en su laboratorio, pero sobre todo por sus siempre acertados comentarios para el mejoramiento de este trabajo.

Al Dr. León Cintra McGlone por haberme permitido realizar parte del trabajo experimental en su laboratorio.

Este trabajo se realizó con el apoyo de los proyectos de DGAI/A IN200794 e IN208494.

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
	1.1 Conceptos básicos sobre los ritmos biológicos	1
	1.2 Perspectiva histórica	7
	1.3 Mecanismos implicados en la generación y expresión de los ritmos circádicos	10
	1.4 Aspectos generales de malnutrición y desnutrición	17
	1.5 Efectos de la malnutrición hipoproteínica crónica sobre patrones rítmicos	21
II.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS	24
III.	MATERIAL Y MÉTODOS	25
	III.1 Tratamiento nutricional	25
	III.2 Obtención de sujetos experimentales	26
	III.3 Diseño experimental	27
	III.4 Monitoreo del ritmo de consumo de alimento	27
	III.5 Monitoreo y registro de la actividad espontánea	28
	III.6 Tratamiento de datos	29
IV.	RESULTADOS	31
	IV.1 Peso corporal	31
	IV.2 Cantidad de alimento consumido	31
	IV.3 Ritmo de consumo de alimento	33
	IV.4 Actividad espontánea	38
V.	DISCUSIÓN	44
VI.	CONCLUSIONES	48
VII.	REFERENCIAS	49
	APÉNDICE 1	58
	APÉNDICE 2	60

---

## RESUMEN

Uno de los problemas que continúan haciendo estragos en la población mundial es la malnutrición, la cual posee en la actualidad una alta incidencia. Tan sólo en el sureste de nuestro país aproximadamente el 16% de la población infantil sufre de este padecimiento, por lo que sigue siendo de gran prioridad el estudio de la malnutrición en organismos en desarrollo. Por otra parte, se sabe poco de los efectos que pueda tener la malnutrición padecida durante los periodos críticos del desarrollo sobre la expresión de ritmos circádicos conductuales. Por lo que el presente estudio se enfocó a la determinación de los efectos de la malnutrición inducida por dietas hipoproteínicas, en la expresión de patrones conductuales rítmicos de ratas adultas.

Para tal efecto se utilizaron ratas adultas malnutridas crónicamente mediante una dieta hipoproteínica de 6% de caseína y ratas controles las cuales tuvieron acceso a una dieta con el contenido adecuado de nutrimentos (Purina Chow).

Se determinó el ritmo de consumo de alimento en ambos grupos nutricionales mediante registros conductuales individuales, grabando los eventos de consumo 30 minutos de cada hora del día, durante 3 días consecutivos. Así mismo se obtuvieron mediciones de la cantidad de alimento ingerido durante cada fase del día. Mediante esta estrategia se encontró, que la malnutrición crónica produce alteraciones en los diferentes parámetros estudiados, observándose marcados decrementos en la amplitud y mesor del ritmo, así como adelantos en la acrofase de la conducta. Durante el día se encontraron persistentes eventos de consumo por parte de los animales malnutridos, tendencia que también se observó en las mediciones realizadas del alimento ingerido en proporción al peso corporal, patrón que difiere a las observaciones obtenidas de los animales controles.

También se obtuvo la distribución temporal de la actividad espontánea, dividida en tres categorías conductuales (aseo, exploración y conductas ingestivas) en ambos grupos nutricionales, mediante la misma estrategia de recolección de datos, pero únicamente fueron analizados los 10 primeros minutos de las grabaciones. Con base a estas observaciones, proponemos que la distribución circádica de la actividad espontánea se encuentra alterada por efecto de la malnutrición crónica, exhibiendo los animales sometidos a malnutrición, en las categorías de aseo y conductas ingestivas marcadas disminuciones en la amplitud y mesor del ritmo, así como también adelantos en la acrofase en la categoría de exploración.

Por lo cual concluimos que la malnutrición produce alteraciones en la expresión de patrones circádicos conductuales, principalmente en lo que se refiere a la amplitud y mesor del ritmo, lo cual posiblemente se deba a su precario estado de alimentación o bien pueda deberse al incremento de la actividad que muestran los animales malnutridos durante el día.

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la malnutrición posee una alta incidencia en la población infantil. A pesar de los grandes avances científicos y tecnológicos continúa, este padecimiento continúa haciendo estragos en la sociedad mundial, por lo que este estudio esta encausado a la exploración de los alcances que pueda tener la malnutrición hipoproteínica padecida durante los periodos pre y postnatales, sobre la distribución de diferentes patrones circádicos conductuales.

### 1.1 Conceptos Básicos Sobre los Ritmos Biológicos

Se considera un *ritmo*, a una secuencia de eventos que se repiten a lo largo del tiempo en un mismo orden y en intervalos relativamente regulares (Minors y Watherhouse, 1981). Una de las características inherentes de los sistemas biológicos es el exhibir fluctuaciones temporales rítmicas en diversas funciones a las cuales se les ha denominado *ritmos biológicos*. En la naturaleza los ritmos biológicos se manifiestan en una amplia gama de frecuencias, desde milisegundos, hasta años. Cuando estas fluctuaciones rítmicas se aproximan a la frecuencia de un ciclo ambiental se les designa el prefijo *circa* (Halberg y col. 1959) de tal forma que los ritmos cuya frecuencia es cercana a las 24 horas (tiempo de rotación de la de la tierra sobre su propio eje) se les denomina *ritmos circádicos* (del latín *circa-cerca, diem-día*). Algunos ejemplos de procesos que presentan ritmicidad circádica (Fig. 1) son los niveles de cortisol en el plasma, la secreción de sodio en la orina, la secreción de hormonas tiroideas, el ciclo sueño - vigilia (Moore-Ede, 1982), así como los niveles de vasopresina en el líquido cefalorraquídeo (Schwartz y col. 1983) entre otros.

También se han encontrado fenómenos rítmicos cuya frecuencia difiere de forma importante del rango circádico (Reinberg y Smolensky, 1993), asignando el nombre de *ritmos ultradianos* a aquellos que muestran frecuencias *mayores* a las 24 horas y cuyo periodo es menor a un ciclo circádico (como la actividad eléctrica neuronal y el ritmo respiratorio entre otros) y *ritmos infradianos* cuya frecuencia de oscilación es *menor* a las 24 horas y por lo tanto su periodo de oscilación es mayor en relación a un ritmo circádico (por ejemplo el ritmo de hibernación).



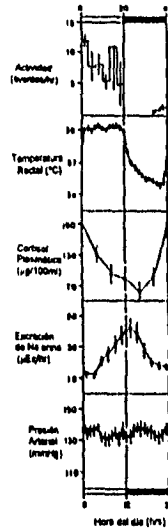


Fig. 1: Esquema de algunos parámetros fisiológicos y conductuales que muestran una distribución circádica en monos; esta especie diurna muestra un incremento de su actividad durante la fase de luz, mientras que durante la fase oscura se depleta casi en su totalidad. Así mismo se muestran fluctuaciones circádicas de procesos fisiológicos como la temperatura, niveles de cortisol plasmático y Na en la orina; en contraste en la parte inferior se muestra el ritmo de presión arterial, el cual posee una distribución ultradiana (Tomada de Moore-Ede, 1982).

Algunos de los parámetros que se analizan comúnmente en los procesos rítmicos son: la *forma de la oscilación* la cual puede ser vista como la desviación de la forma respecto a una onda sinusoidal pura, la *amplitud* ( $r$ ,  $R$ ) la cual se mide desde el punto máximo hasta el mínimo de un evento periódico; el *periodo* ( $t$ ,  $T$ ) el cual es el intervalo de tiempo que ocurre entre dos puntos de referencia idénticos y cuyo recíproco es la *frecuencia*; la *fase* es el estado instantáneo de una función periódica en una escala temporal arbitraria; el *ángulo de fase* ( $\phi$ ) el cual corresponde a la diferencia existente entre dos fases de dos oscilaciones diferentes, como se muestra en la figura 2.

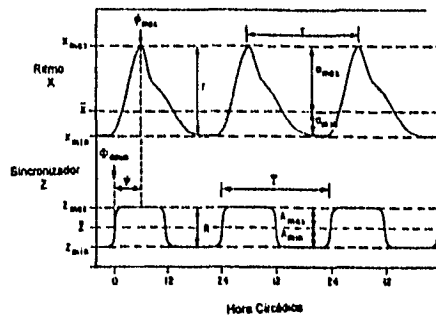


Fig. 2: Representación gráfica de los parámetros amplitud ( $R$ ), período ( $T$ ), fase y el ángulo de fase ( $\phi$ ); en donde la gráfica superior corresponde al ritmo ( $X$ ) y la inferior representa a un evento rítmico sincronizador ( $Z$ ). -Ver texto- (Tomada de Moore-Ede y col., 1982).

Comúnmente los registros de actividad gráficamente se representan en *actogramas*, los cuales consisten en el ordenamiento consecutivo de gráficas de ocurrencia de eventos, en donde en el eje de las ordenadas se presentan los días de registro y en las abscisas la hora del día (fig. 3). Para una mejor apreciación del fenómeno rítmico, se repite del lado izquierdo la misma gráfica sobre la escala de las ordenadas y a este tipo de actogramas se les conoce como *actograma double-plot*. En este tipo de representaciones gráficas de los patrones rítmicos es fácil reconocer la fracción *alfa* ( $\alpha$ ) que corresponde al tiempo de la actividad, que en especies nocturnas comprende la noche subjetiva; por convención se utiliza el inicio de la fase de actividad como referencia de fase y se define como *tiempo circádico 12:00 (CT 12)*. Por otra parte se designa como fracción *rho* ( $\rho$ ) el tiempo de reposo, que en especies nocturnas corresponde a la fase subjetiva de luz. La suma de estas dos fracciones es igual al *período* de un ritmo biológico ( $\alpha + \rho = \tau$ ).

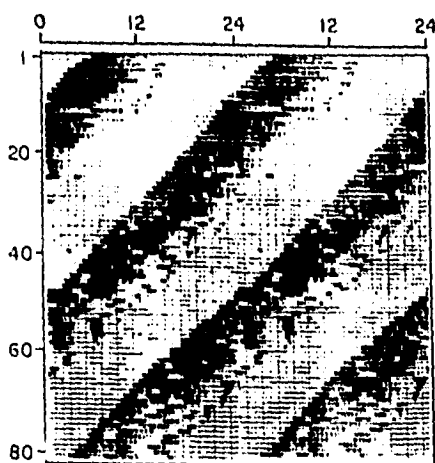


Fig. 3: En este actograma en double-plot se presenta el ritmo de actividad locomotora en oscilación espontánea de ratón (*Mus musculus*) cuyo periodo es menor a 24 horas. Ver texto. (Tomada de Moore & Zeigler, 1982).

Entre la extensa gama de frecuencias en que se exhiben los ritmos biológicos, los que han generado mayor interés en la comunidad científica debido a su preponderancia, son los ritmos circádicos. Se ha propuesto que la función más importante de los ritmos circádicos es la adaptación del organismo a su medio ambiente; Pittendrigh (1981) sugieren que los ritmos circádicos representan importantes procesos a través de los cuales los eventos del medio interno están organizados en una secuencia temporal adecuada, que permite la máxima adaptación al medio externo. Así mismo, la presencia de los ritmos circádicos dota a los organismos de una estrategia más, con la cual se puede incrementar la supervivencia de cada una de las especies en un ambiente en donde el abastecimiento de alimento, como la actividad de depredadores es cíclica.

Una de las características más relevantes de los ritmos circádicos, es que estos son generados de forma *endógena* y que funcionan de manera *autosostenida*, de tal forma que estos ritmos persisten bajo condiciones en las que no existen señales temporales ambientales, mostrando una ligera pero significativa variación en su

período (Fig. 3), a este fenómeno se le conoce como *oscilación espontánea o free-running* (Moore-Ede, 1982). A pesar que estos ritmos son generados de forma endógena, existen variables ambientales cíclicas capaces de influir en la expresión de estos ritmos, a estos estímulos Aschoff los denominó *sincronizadores o Zeitgeber*, de tal forma que los relojes endógenos se ajustan constantemente su fase con los cambios geofísicos, fenómeno que se conoce como *sincronización* (Aschoff, 1981).

La importancia del fenómeno de sincronización radica en que mediante este proceso, es posible el ajuste o adecuación del tiempo biológico con el geofísico. Pittendrigh sugiere que la sincronización proporciona a los relojes biológicos un mecanismo a través del cual son capaces de reconocer la hora local, propiedad sin la cual estas fluctuaciones rítmicas no tendrían relevancia adaptativa.

Una de las tantas aportaciones de Colin S. Pittendrigh (1976) al estudio de los ritmos circádicos ha sido la *Curva de Respuestas de Fase* (PRC), mediante la cual es posible el estudio tanto del reloj, como de los mecanismos de sincronización. Es decir, los efectos que ejercen estímulos ambientales tales como los cambios de iluminación en la sincronización de un marcapaso. La PRC se realiza en organismos en oscilación espontánea y dependiendo de la fase en que se encuentre el oscilador al aplicarse un pulso de luz, puede aumentar o disminuir el período, la dirección y magnitud de los cambios están directamente relacionados con el momento en que se aplica el estímulo luminoso en relación a la oscilación en estudio.

La PRC (Fig. 4) se caracteriza por poseer tres zonas de respuesta específica de acuerdo con la fase en el que es aplicado el estímulo:

1. Zona Muerta, cuando la aplicación del estímulo ocurre durante el día subjetivo, este no produce cambios de fase.
2. Zona de Retrasos de Fase, comprende la noche subjetiva temprana en la cual la aplicación de pulsos de luz produce un alargamiento del período.
3. Zona de Adelantos de Fase en la cual se observa un acortamiento del período como resultado de la aplicación de un pulso de luz durante la noche subjetiva tardía.

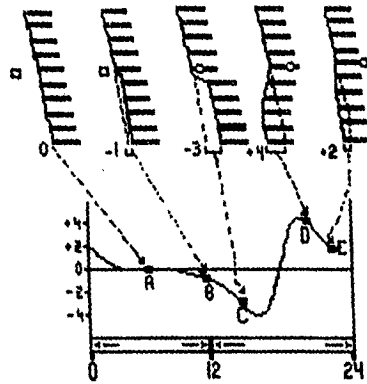


Fig. 4: Curva de Respuestas de Fase (FRC). Cinco experimentos (A-E) con un animal nocturno. Bajo condiciones de oscilación espontánea, se le aplicó un pulso de luz en la mitad del día subjetivo (A), al final del día subjetivo (B), en la fase oscura temprana (C), tardía (D) y en el día subjetivo temprano. El pulso de luz en A no tuvo efecto, mientras que en B y C produce retrasos de fase; finalmente en D y E produce adelantos de fase. En el panel inferior se grafican la cantidad y dirección de los cambios de fase, para obtener la FRC (tomada de Moore-Ede, 1982).

Así mismo, se propone la existencia de un sistema fisiológico que es el responsable de generar y mantener la ritmicidad circádica, a este se le conoce como *sistema circádico* (Fig. 5) el cual está constituido por *uno o varios relojes biológicos* capaces de generar oscilaciones autosostenidas, mediante las cuales se va a regular el *proceso de cronometría*. También debe de constar de *vías aferentes* que transmiten la información temporal acerca del ambiente externo hacia el reloj, las cuales van a estar involucradas en el *proceso de sincronización* de la ritmicidad con los ciclos ambientales. Así mismo, debe de poseer *vías eferentes* que van a regular la transmisión de la ritmicidad de las oscilaciones a los sistemas efectores. Existe un último proceso, que es el de *acoplamiento* entre los relojes del organismo, mediante el cual se lleva a cabo un funcionamiento coordinado entre estos; en donde un oscilador con período y fase propios, ajusta dichos parámetros a los de otros elementos osciladores con quienes tiene la capacidad de interactuar (Pittendrigh, 1981; Granados y col., 1995).

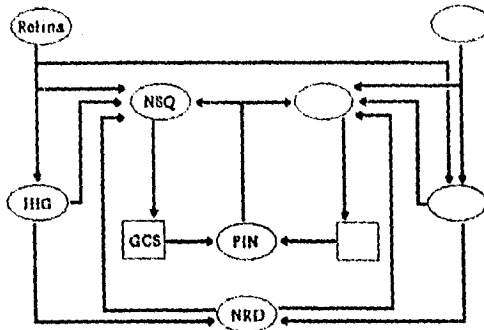


Fig. 5: Esquema del sistema circádico de los roedores. El sistema cronométrico (o reloj biológico) es el encargado de medir el tiempo biológico y que está conformado por los núcleos supraquiasmático (NSQ). El sistema de sincronización es el encargado del ajuste del tiempo geográfico con el geofísico, en los roedores está constituido por la retina y la hipófisis intergenital (HHG) estructuras se conectan al NSQ a través de las vías retina-hipotalámica y genículo-hipotalámica. El sistema de acoplamiento se encarga de coordinar los distintos elementos cronométricos del organismo y está constituido por la glándula pineal (PIN) vía ganglio cervical superior (GCS) y probablemente el núcleo dorsal del rafe (NRD). Ver texto. (Modificada de Aguilar-Robledo, 1994).

## 1.2 Perspectiva Histórica

Inicialmente se consideraba que los cambios cíclicos en los organismos reflejaban exclusivamente el efecto simultáneo de factores ambientales tales como la alternación del día y la noche, así como los cambios de temperatura. Esta concepción se modificó a partir de las observaciones de Jean Jaques De Mairan (1729, En: Reinber y Smolensky, 1993), demostrando que la ritmicidad de los movimientos del follaje de una planta sensible a la luz persistían aún cuando ésta era apartada de la luz del sol (Fig. 6). Estos experimentos posteriormente fueron constatados por Duhamel Du Manceu y Augustín Candolle (En: Moore-Ede, 1982), con los cuales se estableció que la ritmicidad biológica persistía bajo condiciones de iluminación constantes, siendo las demostraciones de Candolle sobre los movimientos de las hojas de la *Mimosa pudica*, la primera demostración de que bajo condiciones de oscuridad continua se presenta el fenómeno de oscilación espontánea.

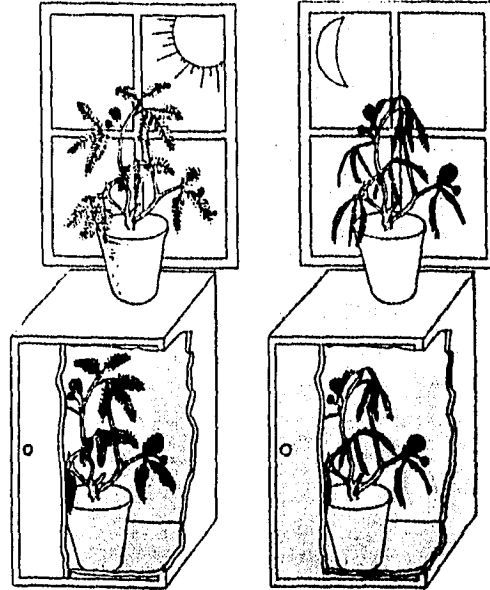


Fig. G: Representación del experimento original de Mairan (Ver Texto). Cuando se exponía la planta a la luz del sol (superior izquierda) las hojas de la planta se abrían y durante la noche (superior derecha) las hojas se cerraban. Mairan demostró que la luz no es necesaria para producir los movimientos de follaje, colocando la planta en oscuridad continua, bajo estas condiciones este ritmo se presentaba (inferior izquierda y derecha) (Tomada de Moore-Ede, 1982).

A partir de estas primeras observaciones se despertó un gran interés a cerca de estos procesos rítmicos, por lo que un gran número de investigadores evocaron su atención a la descripción de diferentes procesos rítmicos en diferentes clases de organismos. Pero posiblemente el avance conceptual más importante de esta área fue cuando se reconoció que los ritmos circádicos son la expresión de un sistema, cuya principal función es la de medir el paso del tiempo, este concepto tuvo sus orígenes en las observaciones de Augusto Forel (1910, En: Moore-Ede, 1982) que fue de los primeros investigadores en proporcionar evidencia de dicha habilidad endógena de los

organismos en abejas, así como también fue el primero en proponer un mecanismo de como eran generadas dichas fluctuaciones circádicas, sugiriendo que los organismos poseían una *memoria temporal* o *Zeitgedächtnis* la cual proporcionaba al organismo la habilidad de predecir y anticiparse a los cambios geofísicos.

Bünning (1932, En: Moore-Ede, 1982; y en 1935, En: Reinberg y Smolensky, 1993) proporcionó relevante información demostrando el origen genético de los ritmos circádicos en plantas y posteriormente en insectos los cuales mostraban ritmos circádicos aún que sus progenitores crecieran en condiciones de iluminación constantes.

Una de las características esenciales de los relojes biológicos, que los hace un instrumento viable para medir el paso del tiempo, es que estos poseen la particularidad de compensar la temperatura, mecanismo que fue descubierto por Colin S. Pittendrigh (1950, 1954, En: Moore-Ede, 1982) en sus bastos estudios en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*.

Posteriormente las observaciones desarrolladas de forma independiente por Pittendrigh, Aschoff, Bünning y Halberg, dieron lugar a la evolución del concepto de *reloj biológico*, el cual se fundamentó en varias premisas:

- Sistema orgánico capaz de generar un orden temporal en las actividades del organismo.
- Capacidad del sistema para oscilar en un periodo regular.
- Usar dichas oscilaciones como una referencia temporal interna, que va a permitir una adecuada interacción del dominio temporal entre el organismo y el medio ambiente.

De acuerdo con este concepto, no interviene ningún proceso de aprendizaje en la generación de los ritmos biológicos (Reinberg y Smolensky, 1993).

En la actualidad existen dos principales propuestas acerca de los mecanismos que subyacen el funcionamiento de los relojes biológicos:

Halberg, sugiere que las fluctuaciones circádicas pueden ser el resultado de la interacción de múltiples procesos fisiológicos oscilatorios, es decir, de esas de



retroalimentación negativa en donde estructuras específicas únicamente intervienen en el ajuste de fase de los diversos procesos (Aguilar-Roblero, 1993).

Por otra parte Pittendrigh (1981) y Aschoff consideran que los relojes biológicos deben de contar con las siguientes características:

- Ser entidades localizables, en zonas restringidas del sistema nervioso o neuroendócrino.
- Generar oscilaciones autosostenidas.
- Imponer fase y periodo al proceso orgánico, es decir a la función que regula.

### ***1.3 Mecanismos Implicados en la Generación y Expresión de los Ritmos Circádicos***

#### ***Proceso de Cronometría***

Durante las últimas tres décadas un gran número de evidencias señalan que el sistema nervioso central (SNC) y el sistema neuroendócrino tienen implicaciones en la generación y coordinación de la ritmicidad circádica de diferentes funciones fisiológicas y conductuales. En invertebrados como es el caso de los moluscos (ojos de la *Aplysia*, neuronas basales de la retina de la *Bulla*), crustáceos (lóbulos ópticos del *acocil*) e insectos (lóbulos ópticos de la cucaracha y grillos) dichas estructuras funcionan como osciladores biológicos (Aronson y col., 1993). De igual forma en vertebrados se han identificado estructuras en el SNC que están involucrados en la generación de dichas funciones cíclicas, como es el caso de la glándula pineal en aves (Menaker y Binkley, 1981), en mamíferos el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (Fig. 7) (Moore, 1983; Menaker y Binkley, 1981; Moore, 1991) y actualmente nuevas evidencias en hámsters dorado y hámsters mutantes tan sugieren que la retina de mamíferos contienen uno o más osciladores circádicos que regulan la síntesis de melatonina de la retina (Tosini y Menaker, 1996).

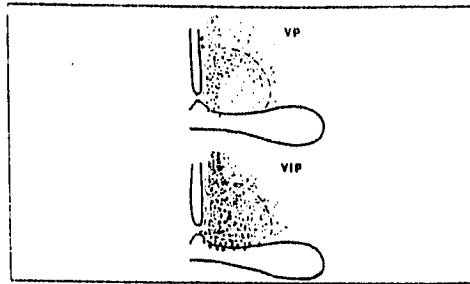


Fig. 7: Diagrama en el que se representa la ubicación y la organización de las células del núcleo supraquiasmático del hipotálamo. Las neuronas Vasopresinérgicas (VP) están localizadas en la porción medial del núcleo, mientras que las neuronas inmuno reactivas al péptido vasoactivo intestinal (VIP) se localizan en la porción ventral (Tomada de Moore, R. 1973).

En la última década los estudios realizados en mamíferos, se ha estudiado ampliamente una estructura cerebral que funciona como marcapasos circádico y este es el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (NSQ) (Moore-Ede, 1982; Moore, 1979; Klein, 1991). Existen evidencias experimentales que han sido contundentes en la determinación del funcionamiento del NSQ como marcapasos circádico:

- Inicialmente se realizaron *ablaciones* de esta estructura en roedores, con lo que se abole la ocurrencia de diferentes patrones conductuales rítmicos, como el ritmo sueño-vigilia (Ibuka y Kawamura 1975), ingesta de agua (Stephan y Zucker, 1972) y alimento (Nagai, 1978), actividad locomotora (Stephan y Zucker, 1972), secreción de corticoesteroides (Moore y Eichler, 1972).
- Posteriormente Inouye y Kawamura (1979) realizaron *registros electrofisiológicos* de actividad multiunitaria en una preparación denominada islas hipotálamicas, en la que se aísla completamente al NSQ de otras estructuras cerebrales circundantes. Con lo cual demostraron que la actividad eléctrica del NSQ aún presentaba una distribución circádica, aumentando la frecuencia de disparo durante la fase de luz y disminuyendo en la fase oscura; estas observaciones fueron corroboradas *in vitro* (Shibata y col. 1982).

- Rusak y Groos (1982) encontraron que la *estimulación eléctrica* del NSQ en ratas y hamsters, produce cambios en la longitud del periodo y la de ritmos circádicos en oscilación espontánea.
- Por otra parte Schwartz y col. (1977, 1980) utilizando el método de 2-Deoxiglucosa (2-DG), encontraron que el NSQ exhibía ritmicidad circádica en su *actividad metabólica*, la cual se incrementaba durante el día, mientras que durante la fase oscura esta mostraba un decremento, así mismo determinaron su oscilación espontánea en condiciones de oscuridad continua.
- Posiblemente la evidencia más concluyente del papel que juega este núcleo hipotalámico como marcapasos circádico fue la recuperación funcional de diversas conductas rítmicas inducidas por *transplantes* de NSQ fetal a animales arrítmicos (Drucker-Colin y col., 1984), imponiendo el tejido donador fase y periodo al huésped; además el NSQ transplantado muestra actividad metabólica (2DG) y actividad eléctrica propias del NSQ intacto (Aguilar-Roblero y col. 1992).

En cuanto a las bases moleculares de la ritmicidad, se han identificado genes como *per* (Hardin y col.; 1990) en *Drosophila melanogaster*, el gen *freq* en *Neurospora crassa* (Aronson y col. 1994) y el gen *clock* en ratones (Takahashi, 1993), cuya expresión está involucrada en la generación de ritmos circádicos. Se ha encontrado que el gen *per* también se expresa en ratas, aunque no se ha podido constatar si este cumple funciones circádicas como en otras especies (Rosewell y col., 1994).

#### *Proceso de Sincronización*

En la actualidad se sabe que existen una gran variedad de estímulos ambientales que pueden funcionar como estímulos sincronizadores de los ritmos circádicos, algunos de estos son la disponibilidad de alimento, el ruido, señales sociales, etc. siendo los cambios diarios de luz y oscuridad la señal ambiental más relevante. Esto se debe a que estos cambios presentan una gran estabilidad en su periodo y fase, lo que lo hace la señal ambiental más predecible.

En mamíferos, como la rata se ha descrito de forma muy extensa, que el NSQ del hipotálamo recibe importantes aferencias visuales, de forma directa a través de dos principales tractos:

- *Tracto retino-hipotalámico* (Moore, 1973; Moore y Lenn, 1972) el cual al parecer se origina de las células ganglionares tipo W, las cuales responden predominantemente a cambios en la luminosidad. Estas células retiniales envían sus colaterales bilateralmente a la porción ventrolateral del NSQ y estudios sugieren que este tracto es suficiente para mantener la sincronización de los ritmos circádicos, ya que cuando este tracto se lesiona se elimina la sincronización (Johnson y col., 1988).
- Aparentemente del mismo tipo de células retiniales también hay inervaciones al núcleo geniculado lateral y a la hojuela intergeniculada, que a su vez inervan al NSQ en su porción ventrolateral formando el *tracto geniculo-hipotalámico* (Ribak y Peters, 1972; Swanson y col., 1974). Al parecer este tracto también participa en la sincronización (Moore, 1983).

Debido a que en mamíferos el ciclo luz-oscuridad (L:O) funciona como el principal agente sincronizador del sistema oscilatorio, estas proyecciones retiniales son necesarias para mediar la sincronización (Moore, 1983).

#### *Proceso de Transmisión*

Mediante el uso de técnicas histoquímicas, se ha podido obtener información del NSQ y se ha podido determinar que éste núcleo hipotalámico posee eferentes a un gran número de estructuras (Fig. 8), entre ellas se encuentran varios núcleos hipotalámicos, talámicos, septum, ganglio cervical superior y NSQ contralateral (Moore, 1983), pero en la actualidad se sabe muy poco acerca de como se lleva a cabo este proceso.

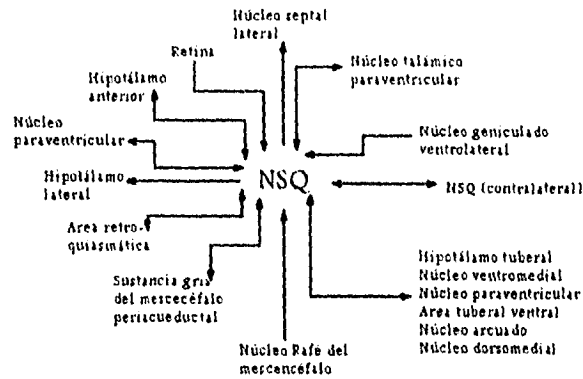


Fig. 8: Esquema representativo de las principales aferencias y eferencias del Núcleo Supraquiasmático del hipotálamo (Modificada de Moore, 1983)

**Proceso de Acoplamiento**

Se contempla al sistema circádico como un sistema multioscilar, y existen evidencias que apoyan esta idea. Una de éstas, es el fenómeno de *partición del ritmo* o *splitting*, en donde la actividad locomotora que originalmente se presenta en un solo componente rítmico se disocia en dos componentes que muestran diferentes periodos y fases al someter a hamsters a luz continua.

Por otra parte se ha encontrado que la lesión total del NSQ no elimina la generación del ritmo de temperatura corporal (Krieger y col., 1977), así como la actividad anticipatoria al alimento (Stephan, 1992; Coleman y col., 1982); por lo que se ha llegado a sugerir que los núcleos ventromedial y lateral del hipotálamo pueden funcionar como osciladores atenuados, que no funcionan de forma significativa en animales intactos; pero que son capaces de mantener una función circádica mínima ante condiciones ambientales inusuales, como es la restricción de alimento (Moore, 1983).

En humanos se ha observado que usualmente los diferentes ritmos fisiológicos se encuentran en coordinación, pero al ser sometidos a oscilación espontánea, estos ritmos muestran distintos periodos circádicos y se pierde la relación de fase entre ellos. A este fenómeno se le conoce como *desincronización interna* (Aschoff, 1981).

También se ha sugerido que en el NSQ se encuentra más de un oscilador, ya que lesiones unilaterales abolen uno de los componentes rítmicos observados en el fenómeno de partición del ritmo (Pickard y Turek, 1982). Estudios de la actividad eléctrica del NSQ *in vitro*, presentan un patrón temporal asimétrico tanto en el perfil de actividad a lo largo del ciclo circádico como, cambios en la acrofase entre cada núcleo (Zhang y Aguilar-Roblero, 1995).

Recientemente mediante un elegante y elaborado procedimiento a través de arreglos de microelectrodos para realizar registros de actividad eléctrica de células individuales del núcleo supraquiasmático en cultivo, Welsh y sus colaboradores (1995) proponen que el NSQ contiene grandes poblaciones autónomas de células individuales que funcionan como osciladores circádicos.

El óptimo funcionamiento del sistema circádico está determinado por la integración de información entre los distintos osciladores, la cual se lleva a cabo por el proceso de acoplamiento de los distintos osciladores. En la actualidad no se han determinado con precisión los mecanismos involucrados en este proceso, pero se propone que la glándula pineal a través de la secreción de melatonina puede funcionar como un integrador de fase en el proceso de acoplamiento (Aguilar-Roblero y Vega González, 1993).

Estudios recientes han reportado que la aplicación diaria de melatonina en determinadas horas del día produce la sincronización del ritmo de actividad locomotora en ratas en oscilación espontánea (Redman y Armstrong; 1983, En: Cassone, 1991). Cuando esta es aplicada entre CT09 y CT12 (*CT- tiempo circádico*) causa adelantos de fase de 30 a 45 minutos (Armstrong, 1987), también causa modificaciones en la relación de fase en ratas mantenidas en ciclos L:O normales (Armstrong, 1987). De igual forma la administración aguda de melatonina al final del día subjetivo reduce la captura de 2-DG en el NSQ (Cassone, 1991) y en la actividad

multiunitaria de este núcleo hipotalámico *in vitro* se modifica la acrofase, ante la aplicación de microinyecciones de melatonina en CT12 (McArthur y col. 1991).

Con el desarrollo del método de 2[ 1 25] iodomelatonina (IMEL) se han caracterizado receptores de alta afinidad a melatonina en el NSQ (Menaker, 1982; Rosenwasser, 1988, En: Cassone, 1991) entre otras estructuras cerebrales, existen algunos estudios controversiales que sugieren que la unión del IMEL en el NSQ varía durante el curso del día (Zisapel y col. 1988; Cardinali y Vacas, 1982; En: Cassone, 1991). Con base en lo anterior se ha planteado que la melatonina producida por la glándula pineal, actúa principalmente en la transducción de la información del fotoperiodo (Cassone, 1991) ó como un sincronizador interno del sistema circádico (Armstrong y Chesworth, 1987).

#### 1.4 Aspectos Generales de la Malnutrición y Desnutrición

Informes recientes de la UNICEF (1990) señalan la existencia de aproximadamente 23 millones de niños que padecen desnutrición severa en países en vía de desarrollo; por lo que en la actualidad sigue siendo de gran prioridad el estudio de los efectos de la desnutrición y malnutrición sobre los organismos en desarrollo. La *desnutrición* es ocasionada por la ingestión de una dieta en cantidades deficientes; mientras que la *malnutrición* es consecuencia de un desbalance en los constituyentes de la dieta (Dobbing, 1970) como es el caso de la malnutrición hipoproteínica crónica.

Para comprender los efectos de la desnutrición y la malnutrición sobre el sistema nervioso en desarrollo se ha utilizado como principal modelo experimental a la rata; ya que al igual que la especie humana pertenece a la familia de los mamíferos altriciales, cuyo desarrollo del SNC es heterocrónico, que comienza a partir de la gestación y concluye en etapas tempranas neonatales, con la ventaja que el proceso está reducido en el tiempo. En ambas especies existen dos fases principales en el desarrollo, en las que se generan tipos específicos de células nerviosas: una fase prenatal que comprende la formación de *intranuronas* de estructuras subcorticales y *neuronas de proyección*, como es el caso de las neuronas piramidales de la corteza cerebral; así como también una fase de proliferación postnatal, durante la cual se forman *interneuronas* y también se lleva a cabo la diferenciación de la *oligodendroglia* (Allman y col. 1971).

Durante estas etapas se lleva a cabo el desarrollo rápido cerebral, que es una secuencia intrincada de diversos procesos anatómicos y bioquímicos, los cuales se deben realizar en tiempos específicos y que son altamente vulnerables a factores exógenos como es el caso de la desnutrición y malnutrición. A estos periodos Dobbing (1970, 1971, 1990) los denominó *periodos críticos del desarrollo* y se ha podido constatar que la malnutrición o desnutrición padecida en estos periodos del desarrollo, pueden provocar alteraciones anatómicas y fisiológicas irreversibles del sistema nervioso que comprenden desde marcadas disminuciones en el tamaño y peso cerebral, así como modificaciones en los patrones encefalográficos; a nivel celular se han observado que diferentes estructuras cerebrales muestran un decremento del número de células y árboles dendríticos menos ramificados (Tabla 1).



Tabla 1: Efectos de la malnutrición sobre el sistema nervioso de ratas

Reducción de peso corporal y cerebral	Reducción del 30 a un 43% en el peso corporal	Dobbing (1970)
Reducción en la Proliferación de Células Nerviosas	Disminución en el tamaño y en el número de células	Morgane y col. (1978, 1993); Winick (1994)
	Corteza Cerebral	Barnes y Altman (1973); Kemper (1978)
	Corteza Cerebelosa	Lewis y col. (1975); Griffin y col. (1977); Kemper (1978); Altman (1980)
	Tallo Cerebral	Altman (1970)
Lentificación en la Migración celular	Retraso en la migración de las células granulosas del bulbo olfatorio	Delbasso y Kemper (1985)
Arboles Dendríticos Menos Ramificados	Amígdala	Escobar y Salas (1993)
	Clastrum	Escobar y Salas (1995)
	Corteza Visual	Schühstedt y Haastel (1989); Diaz-Cintra y col. (1990)
	Cerebelo	Hillman y Chen (1981)
	Hipocampo	Ahmed y col. (1987); Diaz-Cintra y col. (1991); Garcia-Ruiz y col. (1993)
	Tálamo	Salas y col. (1986)
Efectos en la Mielinización	Retraso en Mielinización	Dobbing (1970)
Inmadurez en los patrones EEG	Mayor proporción de ondas lentas	Salas y Cintra (1975); Morgane y col. (1985, 1993)
Alteraciones en los patrones de los Potenciales Provocados (visuales, auditivos y somatosensoriales)	Mayor latencia y menor amplitud de los componentes tardíos	Mourek y Hinwick (1967); Salas y Cintra (1973); Morgane y col. (1978)
	Disminución en la velocidad de conducción en fibras corticoespinales	Quirk y col. (1993)
Alteraciones en los patrones de sueño	Distribución circádica diferente en la que la fase de SWS está retrasada	Forbes (1977); Cintra y col. (1988); Morgane (1983)
Modificación en los niveles de neurotransmisores	Incremento en los niveles cerebrales de serotonina, 5HIAA, nor epinefrina, triptófano, fenilalanina, niveles plasmáticos de andrógenos en machos	Kemick (1988)

Las alteraciones asociadas a la malnutrición finalmente se ven manifestadas a nivel conductual, encontrándose alteraciones en el desarrollo de patrones conductuales específicos, marcadas deficiencias en los procesos de aprendizaje, así como interacciones sociales inadecuadas y modificaciones en la conducta maternal (Tabla 2).

Tabla 2: Efectos de la Malnutrición sobre los Patrones Conductuales de la Rata

<i>Desarrollo</i>	Persistencia del reflejo de prensión, retrasos en el desarrollo locomotor.	Altman y col. (1971) Gramberg y Werterga (1992)
	Deficiencia de orientación al nido y a la luz.	Biel (1939); Altman y col. (1971); Alogane y col (1993)
	Deficiente exploración del medio ambiente.	Frankova (1973); Escobar (1987)
	Retraso de patrones de frotamiento vertical y horizontal, escarbar, trepar, aseo, nido.	Salas y Cintra (1973); Alasaro y col. (1977); Hall y col. (1979); Salas y col. (1991)
<i>Aprendizaje</i>	Alteraciones en el aprendizaje y memoria espacial, deterioro en discriminación visual.	Jordan y col. (1981); Gosnell y col. (1986); Castro y Rudy (1989); Rudy y Castro (1990); Tonkiss y col. (1991); Bedi K.S. (1992); García-Ruiz y col. (1994)
<i>Interacción social</i>	Interacciones sociales inadecuadas, siendo estas más reactivas y agresivas, incapacidad de modular respuestas emocionales.	Frankova (1973); Levitsky (1975); Tonkiss y Smari (1983); Wiener y col. (1983); Escobar (1987)
<i>Conducta maternal</i>	Alteraciones en la conducta maternal, permaneciendo las hembras más tiempo en el nido y deficiente construcción del nido.	Frankova (1973); Alasaro y col. (1977); Salas y col. (1984)
	Persistentes y compulsivas conductas de aseo y roedor de las crías.	Salas y col. (1984)

Existen diferentes métodos para producir experimentalmente malnutrición o desnutrición, mediante los cuales se ha intentado obtener un control más preciso de la disponibilidad de nutrientes al feto o a la rata infante (Tabla 3).

Tabla 3: Principales métodos experimentales utilizados para producir malnutrición.

Método	Etapas del Desarrollo en la que se Aplica	Descripción	Referencias
Administración Crónica de dietas hipoproteicas	Pre y Postnatal	Se administran dietas hipoproteicas durante la gestación y lactancia de las hembras, posterior al destete las crías continúan con esta alimentación.	Morgane, 1978
Separación Parcial de la Camada	Postnatal	Las crías durante un lapso de 10 a 12 horas al día son alojadas en una incubadora, alejadas de la madre para evitar la succión de leche.	Salas y col. 1984
Manipulación del Tamaño de la Camada	Postnatal	Se aumenta el número de crías de 15 a 20 por cada hembra lactante, generando mayor competencia entre ellas para succionar.	Wilkinson y McCance, 1963
Reducción de la Ingesta de Alimento	Prenatal	Se limita la cantidad de alimento proporcionada a la hembra lactante, por lo que se reduce la producción de leche materna, así como la ingesta láctea de las crías.	Wierer y col. 1977
Alimentación Intragástrica	Postnatal	Las crías son alimentadas intragástricamente con fórmulas sintéticas.	Hall, 1975
Ligadura de los conductos Galactoforos	Postnatal	A hembras lactantes se les ligados los conductos galactoforos, de manera que aunque succionen las crías no obtienen leche. Cada 12 horas se intercambia con otra hembra lactante no ligada.	Salas y col. 1984
Utilización de una hembra "lila"	Postnatal	En este se intercambia cada doce horas la hembra lactante, por una hembra virgen.	Escobar, 1987

Las características de la malnutrición en humanos varía pero la forma más prevalente de este padecimiento es su naturaleza crónica. Es un hecho que en muchas sociedades mundiales las cantidades adecuadas de proteínas en la dieta son substituidas por grasa y carbohidratos; por lo general el consumo de estas dietas inadecuadas perdura a lo largo de la vida del individuo (Morgane, 1978). El procedimiento experimental que más se aproxima a estas condiciones es la malnutrición inducida por la administración crónica de dietas hipoproteínicas, tal como es el caso de las dietas de 6% y 8% de caseína. La única fuente de aporte proteínico de estas dietas es la caseína, así mismo esta dieta posee un alto contenido de carbohidratos y grasas. Con base en las similitudes que presenta este modelo experimental a las condiciones humanas, es uno de los procedimientos más utilizados para el estudio de la malnutrición y sus efectos sobre el Sistema Nervioso Central.

### *1.5 Efectos de Malnutrición Hipoproteínica Crónica Sobre Patrones Rítmicos*

Dentro de los estudios elaborados para determinar los efectos de la malnutrición, también se han desarrollado diferentes investigaciones con la finalidad de determinar la expresión de diversos patrones rítmicos en ratas sometidas a malnutrición hipoproteínica crónica. Entre ellos Forbes y col. (1977) encontraron que los animales malnutridos crónicamente con dietas hipoproteínicas al inicio de la fase de luz mostraban un decremento de sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) en comparación de sus controles y un incremento de este mismo al inicio de la fase oscura, tendencia que se modificaba al final de ambas fases, ya que ambos grupos mostraban tendencias similares. Con base en estas observaciones propusieron que el principal efecto de la malnutrición sobre los patrones de sueño, era un cambio en la distribución temporal del MOR, hacia el inicio de las fases de luz y oscuridad.

En otro estudio (Forbes, 1977) encontraron que la malnutrición afecta la ocurrencia de MOR ante manipulaciones del período luz-oscuridad (L:O); por lo que sugieren que este efecto se debe a una relativa incapacidad de los animales desnutridos a responder a los cambios en el fotoperíodo.

Salas y sus col. (1984) estudiaron la actividad cíclica de sueño en ratas macho adultas de la cepa Wistar, sometidas a desnutrición mediante el método de separación parcial de la camada, con lo cual observaron que las ratas desnutridas durante el día exhibían un incremento en la duración del sueño MOR y una reducción en el número de ciclos completos de sueño. Mientras que durante la noche los animales de ambos grupos nutricionales incrementaron la duración de la vigilia y del sueño de ondas lentas, pero los animales desnutridos mostraron valores más bajos.

Posteriormente en 1988 Cintra y sus colaboradores, realizaron un estudio del patrón circádico de sueño en ratas malnutridas de 60, 120 y 220 días de edad con lo cual encontraron que este padecimiento no altera el valor del período de los estados de vigilancia, pero los valores promedio de la amplitud del ritmo circádico de los estados de vigilancia fueron mayores en los animales malnutridos que en los controles. Por otra parte la acrofase de los estados de vigilancia presentaron retardos en los animales malnutridos bajo oscuridad continua en comparación de sus controles. Mediante el análisis del patrón circádico de cada uno de los estados de vigilancia, observaron que los animales malnutridos requieren un menor tiempo para alcanzar el valor máximo o mínimo de amplitud durante los momentos de transición del fotoperiodo en comparación de los valores mostrados por los animales controles.

Posteriores estudios realizados por este mismo grupo de investigación (1994) describieron que la desnutrición crónica hipoprotéinica reduce el tamaño del soma en las células del núcleo supraquiasmático, sugiriendo a su vez que posiblemente estas alteraciones sean el sustrato morfológico que subyace las alteraciones en los patrones circádicos del sueño y conductuales que se observan en animales malnutridos.

En un estudio reciente Aguilar-Roblero y col. (1996) realizaron un vasto estudio acerca de la organización circádica de la conducta de ingesta de agua bajo diferentes condiciones de iluminación, así como la caracterización inmunohistoquímica del núcleo supraquiasmático en ratas malnutridas crónicamente. En lo que se refiere al patrón circádico de ingesta de agua encontraron marcadas diferencias entre los animales controles y malnutridos, en donde estos últimos exhibieron:

- a) Bajo un ciclo luz-oscuridad (12:12) presentaron el fenómeno de partición del ritmo (Fig. 9), el cual se condensó en un solo componente de actividad bajo condiciones de oscuridad continua.
- b) Cuando los animales se expusieron a un fotoperiodo esqueleto, las ratas malnutridas mostraron retrasos en la sincronización en comparación de sus controles.
- c) En condiciones de fotoperiodo completo la sincronización fue más rápida en el grupo malnutrido.

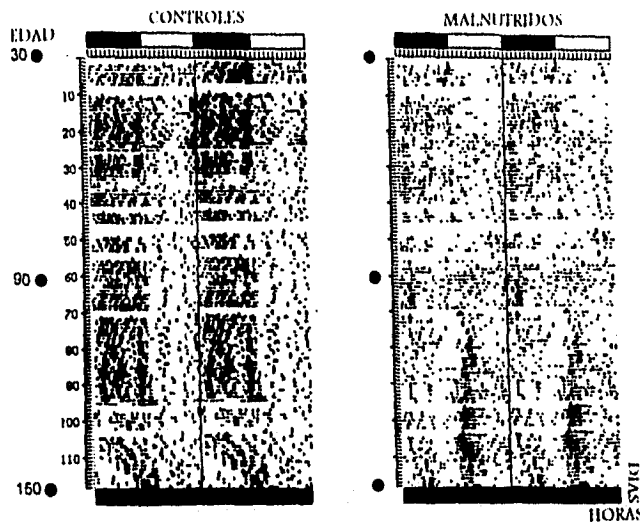


Fig. 9: Actogramas doble plot del ritmo de ingesta de alimento en ratas controles y malnutridas, registradas bajo un ciclo L:D (12:12). Condiciones bajo las cuales los animales malnutridos presentan partición del ritmo (tomada de Salazar-Juarez, 1996).

En el análisis inmunohistoquímico de núcleo supraquiasmático en animales de ambos grupos nutricionales, observaron un decremento en el número y densidad de células inmunoreactivas a VIP y GFAP en los animales que fueron sometidos a malnutrición crónica. Con base en estas observaciones proponen que los principales efectos de la malnutrición crónica son un decremento en la fuerza de acoplamiento entre osciladores, así como también en la fuerza de ajuste de fase entre los osciladores y el ciclo luz-oscuridad.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

La organización circádica de procesos metabólicos puede verse alterada, si se administra una dieta mal balanceada como la dieta hipoproteínica; que a su vez puede tener efecto en la expresión circádica del ritmo de consumo de alimento, así como de otros ritmos. De tal suerte que la determinación de la ingesta de alimento en ratas malnutridas pudieran ser un índice de este último proceso.

Estos antecedentes ponen de manifiesto que la malnutrición crónica inducida por dietas hipoproteínicas, produce alteraciones irreversibles en la morfología de diferentes estructuras del sistema nervioso central, lo cual se ve claramente reflejado en la expresión de diferentes conductas. Se cuenta con evidencia de que la malnutrición también afecta la citoarquitectura de estructuras involucradas en el sistema circádico, de tal suerte que estas alteraciones pueden verse manifestadas en la distribución temporal de diferentes patrones conductuales.

### *II.1 OBJETIVOS*

1. Describir los efectos de la malnutrición crónica hipoproteínica sobre la distribución temporal de los patrones conductuales de ingesta de alimento, así como también sobre el consumo de alimento durante ambas fases del día, en ratas macho de 60 días de edad.
2. Describir los efectos de la malnutrición crónica hipoproteínica sobre los patrones de actividad espontánea clasificada en categorías conductuales, en ratas macho de 60 días de edad.

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio, se emplearon ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, cuya edad al inicio del experimento fue de 60 días, y que se habían expuesto a una de dos condiciones nutricionales: malnutrición crónica producida por la administración de una dieta hipoproteínica (*MAI*) y control (*COM*). Los animales se mantuvieron en un cuarto de bioferio bajo un ciclo de luz-oscuridad (L:O) de 12:12 horas (encendido de luces 8:00, apagado a las 20:00 hrs.) y a temperatura controlada a  $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

#### *III.1 Tratamiento Nutricional*

Con el objeto de malnutrir a uno de los grupos, se les suministró *ad libitum* una dieta baja en proteínas (6%); mientras que al grupo control se les proporcionó una dieta con el contenido adecuado de proteínas (Purina Chow).

La principal fuente de aporte proteínico de la dieta 6% fue caseína (Cia. Teklad Mills, Chagrin Falls, WI. U.S.A.), que se complementó con L-metionina (0.4%) debido al bajo contenido de aminoácidos sulfatados que ésta posee. Así mismo fueron adicionados fosfato de calcio monobásico (0.06%) y carbonato de zinc (0.001%) a la mezcla de sales de esta dieta para mantener estos minerales en los niveles encontrados en otras dietas. Además esta dieta posee una mayor cantidad de carbohidratos que compensan la posible deficiencia en calorías, también contiene mayor cantidad de grasa en relación a las dietas comerciales, como es el caso de la dieta Purina Chow como se muestra en la Tabla 4.



Tabla 4: Composición Nutricional de las Dietas (Tomada de Morgane y col, 1978)

Componentes	Purina Chow	6% Caseína
Proteínas	26.3	5.3
Grasa	7.1	15.0
Carbohidratos	42.9	68.9
Mezcla de Sales	3.5	4.0
Mezcla de Vitaminas	0.3	1.0
Agua	9.6	1.2
Elemento no Nutritivo	10.3	4.2
Kcal/gr.	3.0	4.3

### III.2 Obtención de Sujetos Experimentales

Para la obtención de los sujetos experimentales se aparearon hembras de tres meses de edad y de un peso corporal entre 200 - 250 gramos, y machos de aproximadamente 325 - 350 gramos. Previamente al apareamiento, las hembras se expusieron por un período de 5 semanas a una de las dos dietas de acuerdo al grupo nutricional asignado y se les continuó administrando la dieta correspondiente durante la gestación y la lactancia. Las ratas macho se sometieron únicamente durante una semana previa a la cruce a una de las dos dietas antes mencionadas.

El apareamiento se realizó colocando durante diez días, un macho con tres hembras alimentadas con la misma dieta. A los 21 días las hembras preñadas se colocaron en cajas individuales de acrílico transparente (22.5 x 45 x 20 cm.) y diariamente se verificó la presencia de partos.

Una vez nacidas las crías, se registró la fecha de nacimiento. Las camadas nacidas el mismo día se mezclaron y asignaron aleatoriamente 8 crías de ambos sexos, para cada hembra del mismo tratamiento dietético.

El día 21 de edad postnatal (EP) las crías se destetaron, se alojaron en grupos de cuatro machos por jaula, con libre acceso a la dieta con la que se alimentó a la madre.

Dos días previos al inicio de los registros conductuales, es decir en EP 58, los animales se pesaron y alojaron de forma individual en cajas de acrílico transparente (21 cm. X 21 cm.) con acceso libre a agua y a la dieta correspondiente, para que de esta forma estos se habituaran a las condiciones experimentales. Bajo estas condiciones se mantuvieron los sujetos de ambos grupos nutricionales durante la realización de los registros conductuales, que se realizaron a partir del EP 60.

### ***III.3 Diseño Experimental***

- Inicialmente se monitorearon ratas de ambos grupos nutricionales para determinar el ritmo de consumo de alimento, así como la cantidad de alimento ingerido durante cada una de las fases del día.
- En una segunda etapa se analizó la actividad espontánea de ambos grupos nutricionales, con la finalidad de establecer la distribución circádica de diferentes categorías conductuales.

### ***III.4 Monitoreo del Ritmo de Consumo de Alimento***

Para la realización de estos registros fueron utilizados 13 sujetos *MAL* y 6 *CON*, los cuales se alojaron individualmente y se sometieron previamente a habituación, en las condiciones que anteriormente fueron señaladas. Durante 3 días se grabó su actividad espontánea utilizando una cámara de video, colocada a un metro de distancia y se grabó 30 minutos de cada hora del día. Así mismo, se registró la cantidad de alimento consumido cada 12 horas, pesando el alimento en los momentos de transición de las fases de L:D, es decir al inicio de la fase de luz (8 a.m.) y de oscuridad (8 p.m.); para tal efecto fueron utilizados 12 sujetos de cada condición nutricional.

Una vez obtenidas las grabaciones conductuales, se examinaron por medio de un registro continuo (ver criterios de evaluación conductual Apéndice 1) para lo cual se cronometró el tiempo en que inició y finalizó la conducta de ingesta de alimento, obteniendo de esta forma la duración de cada una de los eventos de consumo de

alimento, de cada hora del día, durante los tres días consecutivos en que se realizaron las grabaciones. Datos que posteriormente fueron capturados en el programa para computadora Excel para su posterior análisis estadístico.

### III.5 Monitoreo y Registro de la Actividad Espontánea

Con la finalidad de determinar la distribución circádica de la actividad espontánea, es decir de los movimientos y actividades exhibidas por los sujetos, sin intervención de causas exteriores o estímulos específicos. Se adoptó una clasificación conductual de 3 categorías conductuales, de patrones específicos conductuales que se presentan de manera espontánea en ratas alojadas de manera individual. Para tal efecto se analizaron las grabaciones anteriormente señaladas, pero examinando los primeros 10 minutos de cada hora del día, de 6 ratas *CON* y de 8 sujetos *MAL*.

Las grabaciones conductuales se examinaron mediante un muestreo instantáneo (ver criterios de evaluación conductual Apéndice 1), el cual consiste en determinar las conductas exhibidas por los sujetos en intervalos regulares, que en este caso fue elegido un intervalo de 10 segundos, es decir cada diez segundos se detuvo la grabación y se anotó la conducta que cada sujeto desplegaba en dicho intervalo (Martin y Bateson; 1988). De esta forma fueron obtenidos 60 eventos de por cada 10 minutos de registro de cada hora del día; con la obtención de los eventos conductuales se calculó la frecuencia de cada una de las categorías conductuales estudiadas, en cada hora del día. Posteriormente estos datos fueron capturados en una base de datos (Excel) para su posterior análisis estadístico.

Las categorías conductuales que se contemplaron en el presente estudio forman parte del repertorio conductual altamente estereotipado en las ratas, siendo los tres patrones conductuales catalogados:

- *Exploración* en esta categoría se consideraron el desplazamiento y brinco del sujeto en cualquier área de la caja, el husmeo ya fuera este vertical u horizontal con movimiento de vibrisas, escarbar el aserrín que contenía la caja y cuando los animales se trepaban en la tapa metálica que cubría la caja.

- *Aseo* categoría que contemplo tanto los lamidos, acicalamientos, así como rascados dirigidos a cualquier zona del cuerpo.
- *Conductas Ingestivas* categoría en la cual se consideraron los lamidos al bebedero, roer y masticar pellets de alimento tanto del comedero, como los fragmentos que se encontraban distribuidos sobre el aserrín de la caja.

### III.6 Tratamiento de Datos

#### *Peso Corporal:*

- Las diferencias en el peso corporal de los sujetos de ambos grupos nutricionales se analizaron mediante el ANOVA de una factor.

#### *Cantidad de Alimento Ingerido:*

- La cantidad de alimento consumido, así como su proporción respecto al peso corporal de los sujetos, se analizaron mediante el ANOVA de parcelas divididas (estado nutricional x fase del día).

#### *Ritmo de Consumo de Alimento:*

- La duración de esta conducta se representó gráficamente a través de actogramas doble plot, con el programa para computadora DiSPAC (Vega-Gonzalez, 1994).
- A partir de los actogramas se determinaron visualmente los parámetros  $\alpha$ ,  $\rho$  y  $\tau$ . Con la finalidad de determinar si existían diferencias entre ambos grupos nutricionales en dichos parámetros y se aplicó el ANOVA de un factor.
- Se elaboró un perfil de actividad, que consistió en graficar la duración promedio de cada hora del día, de los tres días consecutivos de registro.
- Los valores del perfil de actividad se analizaron por medio del método Cosinor (Ver Apéndice 2).

*Conducta Espontánea:*

- Debido a que la determinación del periodo circádico puede hacerse más evidente suavizando los datos crudos para eliminar oscilaciones ultradianas, se generaron series de tiempo mediante el procedimiento de promedio móvil (moving average). Este procedimiento consiste en la promediación del valor de un punto, con el valor del punto inmediato previo y el posterior, de tal suerte que las variaciones rápidas de un punto a otro son promediadas y solamente se mantienen las variaciones lentas, lo cual corresponde a un alisamiento o un filtro (paso bajas) de la secuencia original (Oppenheim y col. 1983). por ejemplo, el alisamiento de tres puntos de una secuencia, es la siguiente:

$$y[n] = \frac{x[n-1] + x[n] + x[n+1]}{3}$$

- Para determinar la existencia de diferencias en la frecuencia de cada una de las categorías, en cada fase del día se aplicó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis.
- Se obtuvo la determinación visual de los parámetros  $\alpha$ ,  $\rho$  y  $\tau$ , así como la aplicación de una ANOVA de una vía para determinar los efectos de la malnutrición en estos parámetros.
- Se elaboraron perfiles de actividad, para la representación gráfica de la categorías de exploración, aseo y conductas ingestivas.
- Con los promedios obtenidos para cada una de las categorías conductuales se generó una nueva serie de tiempo, las cuales se analizaron mediante el método cosinor Cosinor (Ver Apéndice 2).

## IV. RESULTADOS

### *IV.1 Peso Corporal*

Generalmente en los estudios de malnutrición la obtención del peso corporal de sujetos sometidos a diferentes condiciones nutricionales es utilizado como un indicador del estado nutricional de cada grupo. Para la obtención de este parámetro se utilizaron 12 ratas adultas de 58 días de edad, controles y 12 sometidos a malnutrición hipoproteínica crónica. Con lo cual se encontró que la administración de la dieta baja en proteínas durante las etapas pre y postnatal, produjo una deficiencia significativa ( $P < 0.0001$ ) de aproximadamente el 76% en el peso corporal de sujetos MAL (43.85 gr.  $\pm$  16.42 gr.; media y error estándar) en comparación del grupo CON (184.65 gr.  $\pm$  38.59 gr.; media y desviación estándar).

### *IV.2 Cantidad de Alimento Consumido*

En cuanto el consumo de alimento se observó que ambos grupos consumen significativamente mayor cantidad de alimento durante la fase oscura ( $P < 0.001$ ), en comparación con la fase de luz del día (Fig. 10). Cuando se comparó la cantidad de alimento consumido por cada uno de los grupos, se encontró que los animales MAL en ambas fases del día ingirieron significativamente ( $P < 0.001$ ) menor cantidad de alimento, en comparación de los CON. Sin embargo, cuando se calculó la cantidad de alimento ingerido en proporción al peso corporal de los sujetos de cada grupo nutricional, esta tendencia se modificó, ya que de forma significativa ( $P < 0.001$ ) las ratas MAL ingirieron mayor cantidad de alimento durante la fase de luz, en comparación de sus CON, mientras que durante la fase oscura ambos grupos nutricionales mostraron tendencias similares.

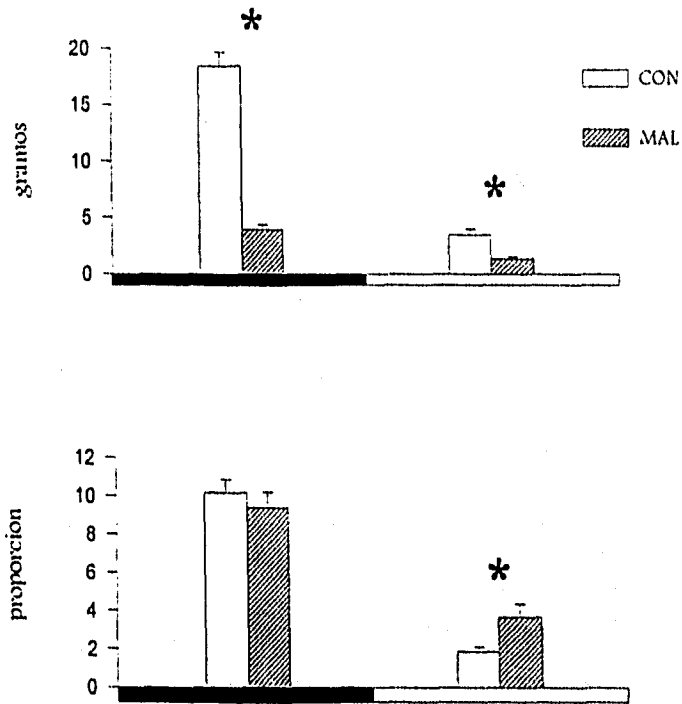


Fig. 10: Gráficas de consumo de alimento de ratas controles (CON) y malnutridas crónicamente (MAL) con una dieta hipoproteínica (gráfica superior), en donde ambos grupos mostraron un consumo significativamente ( $P < 0.001$ ) mayor de alimento durante la fase oscura, en comparación de la fase de luz. El principal efecto producido por la malnutrición, fue un decremento significativo de la cantidad de alimento consumido en gramos, durante ambas fases del día en comparación de sus controles. Pero al normalizar el consumo de alimento, en proporción al peso corporal de los animales (gráfica inferior) se observó que el grupo malnutrido consumió mayor cantidad de alimento en proporción a su peso corporal únicamente durante la fase de luz ( $P < 0.001$ ).

### IV.3 Ritmo de Consumo de Alimento

En los registros conductuales de los sujetos CON, se observó de forma consistente exhibieron un marcado incremento de esta conducta durante la noche, llegándose a compactar la conducta en un solo bloque que correspondía a esta misma fase del día. Así mismo, se encontró que el inicio de alfa coincidía con el inicio de la noche (Fig. 11). Durante el día la ocurrencia de esta conducta disminuyó de forma significativa en relación a la noche. En la evaluación visual de los parámetros  $\alpha$ ,  $\rho$  y  $\tau$  se determinó que este ritmo posee un período cercano a las 24 horas (Tabla 6).

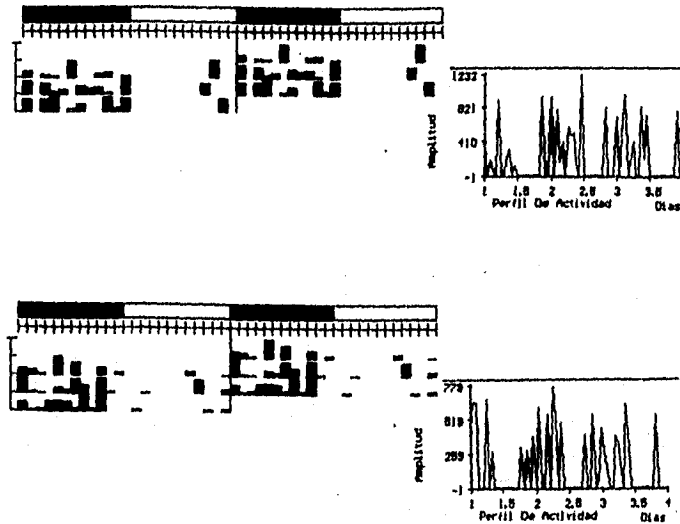


Fig. 11: Actogramas (extremo izquierdo) y perfil de actividad (extremo derecho) del ritmo de consumo de alimento de dos ratas macho adultas, representativas del grupo control. Estas mostraron un marcado incremento de esta conducta durante la fase oscura del día, compactando su actividad en un solo bloque, coincidiendo el inicio de alfa, con la hora en que la fase oscura comenzó. Esta conducta rítmica presentó un período dentro del rango circádico.



En los registros obtenidos de los sujetos MAL se observó que algunos animales mostraron un solo bloque de actividad durante la noche, pero en la mayoría de sujetos MAL la conducta no llegó a compactarse y formar un solo bloque, como se encontró de forma consistente en los sujetos controles. Esto se debe a que en la conducta de los animales malnutridos se caracterizó por profusos eventos de esta conducta durante el día (Fig. 12). Esta peculiaridad en la expresión conductual encontrada en este grupo nutricional, muestra una estrecha concordancia con las mediciones obtenidas de la cantidad de alimento consumido, las cuales revelan que estos animales MAL también consumen alimento durante el día y en una mayor proporción que los animales del grupo testigo.

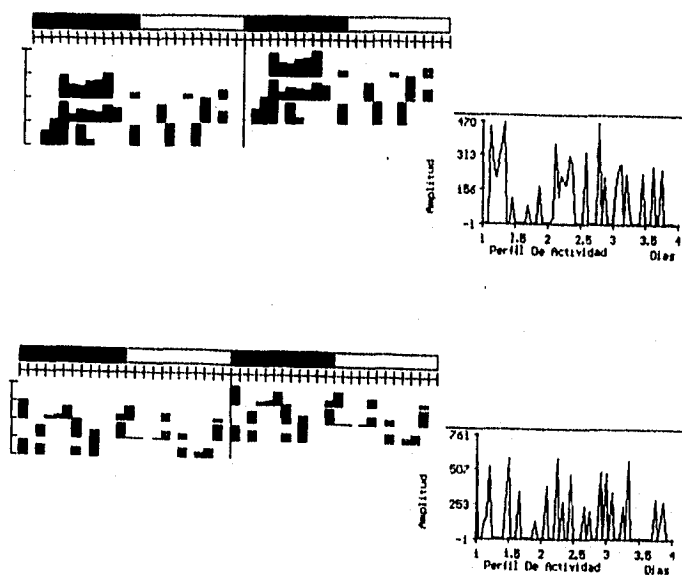


Fig. 12: Actogramas (extremo izquierdo) y perfil de actividad (extremo derecho) del ritmo de consumo de alimento, de dos ratas representativas del ratas sometidas a malnutrición hipoproteínica crónica. En donde se observó que aumenta la presencia de esta conducta durante la fase oscura del día, pero con una gran persistencia de eventos durante la fase de luz, tendencia que difiere a lo observado en el grupo testigo. Esta conducta rítmica posee un período dentro del rango circádico.

Otro de los rasgos característicos de la conducta de consumo de alimento de las ratas sometidas a malnutrición hipoproteínica crónica fue la notable disminución en la amplitud del ritmo, que fue constatado por una disminución significativa ( $P < .001$ ) de la duración de los eventos de consumo de alimento durante la noche. Así mismo, se observó en varios de los actogramas correspondientes al grupo MAL, que el inicio de la actividad ocurrió después de la hora en que fueron apagadas las luces como se muestra en la figura 12 (actograma superior).

En la evaluación visual de los parámetros  $\alpha$ ,  $\rho$  y  $\tau$  de este grupo nutricional mostraron una tendencia similar a la observada a los CON (Tabla 6) en donde no se encontraron diferencias asociadas a la condición nutricional de los sujetos, sobre la duración de cada uno los parámetros; pero cabe mencionar que la dispersión de los valores de las sujetos MAL aumenta.

TABLA 6: Determinación Visual de la Duración en Horas de los Parámetros  $\alpha$ ,  $\rho$  y  $\tau$ , del patrón Circádico de Consumo de Alimento (Media y Desviación Estándar) de ratas macho adultas CON y MAL.

GRUPO	$\alpha$	$\rho$	$\tau$
CON	10.77 $\pm$ 1.62	12.66 $\pm$ 1.60	23.44 $\pm$ 1.54
MAL	9.33 $\pm$ 3.45	13.56 $\pm$ 4.82	22.89 $\pm$ 4.12

El método Cosinor se realizó utilizando un periodo de prueba de 24 horas. Los resultados mostraron una notable disminución del mesor y la amplitud del ritmo de consumo de alimento por parte en el grupo MAL (Fig. 13). A pesar de que el radio de ajuste no fue significativo, el porcentaje de ritmicidad es aceptable en ambos grupos, ya que rebasan el 30% (Minors y Waterhouse, 1988) siendo menor este porcentaje en los animales MAL, en comparación de sus CON (Tabla 7). En lo que se refiere a la acrofase del ritmo, en el ajuste realizado se observó que los animales MAL exhiben un retraso de aproximadamente 1 hora.

TABLA 7: Ajuste Cosinor del Ritmo de Consumo de Alimento, de ratas adultas controles y malnutridas

Grupo	Mesor	Amplitud	Acrofase (grados horas)	% de ritmicidad
CON	135.61	121.77	-17.5° 01:00	46.1
MAL	66.93	41.10	-30.51° 02:00	34.8

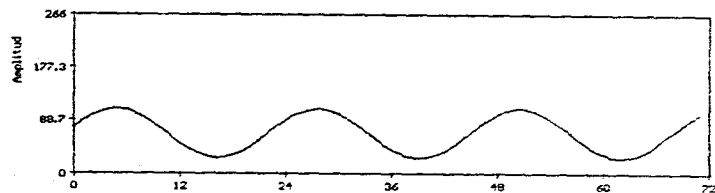
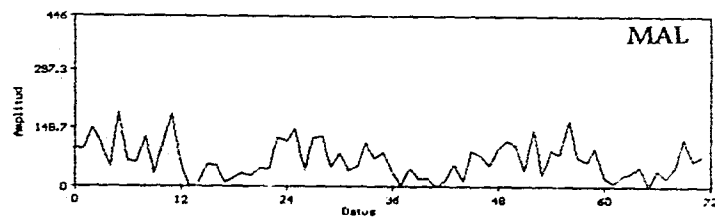
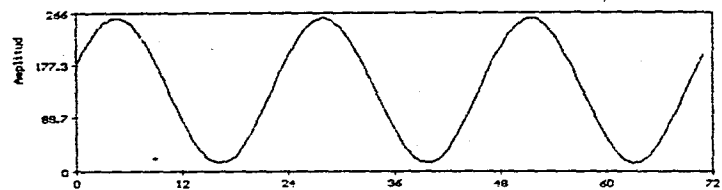
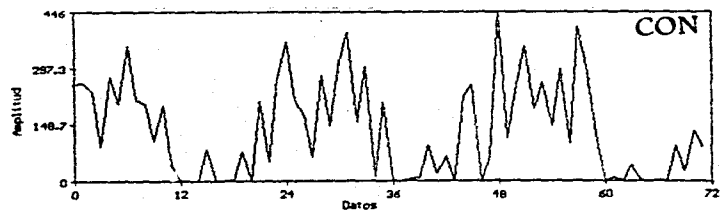


Fig. 13: Ajuste Cosinor del Ritmo de Consumo de Alimento, de ratas machos controles (CON) y malnutridas (MAL) de 60 días de edad. En la parte superior se muestra el perfil de actividad con los datos obtenidos mediante los registros conductuales. En la parte inferior se muestra el ajuste de los datos a una curva cosenoidal, a través de este método se encontró que el grupo MAL mostraban un marcado decremento en la amplitud y el mesor del ritmo, así como un ligero retraso de aproximadamente una hora en la acrofase del ajuste.

#### IV.4 Actividad Espontánea

Mediante la obtención de la frecuencia de cada una de las categorías conductuales se encontró que ambos grupos nutricionales mostraron mayor número de eventos durante la noche, en comparación del día, observándose que estos patrones conductuales rítmicos poseen un periodo cercano a las 24 horas, tendencia esperada en estos roedores nocturnos. Los sujetos MAL, consistentemente en todas las categorías conductuales exhibieron un decremento en la amplitud del ritmo.

Las principales características detectadas en cada una de las categorías conductuales estudiadas, en ambos grupos nutricionales fueron:

**ASEO:** Los animales de ambos grupos mostraron mayor número de eventos de esta conducta durante la fase oscura ( $P < 0.001$ ), en comparación del día, como se muestra en los perfiles de actividad en la figura 14. Entre las diferencias asociadas a la condición nutricional de los sujetos, se hizo patente una disminución estadísticamente significativa ( $P < 0.005$ ) en la frecuencia de la conducta principalmente en la primera mitad de la noche (a las 23, 24 y 02 horas geográficas) en los animales sometidos a malnutrición.

Con base en los resultados obtenidos mediante el método Cosinor (Fig. 14) de los promedios de los grupos, se observó que los parámetros que muestran mayor susceptibilidad a ser modificados por la administración crónica de dietas lipoproteínicas durante los periodos críticos del desarrollo son, la amplitud y el mesor, cuyos valores fueron inferiores a los observados en el grupo testigo. Mientras que la acrofase de esta conducta fue similar en ambos grupos nutricionales (Tabla 8).

**EXPLORACIÓN:** En esta categoría conductual se observó una tendencia similar a la categoría de aseo en lo que se refiere a la distribución temporal de la conducta (Fig. 15), en donde ambos grupos mostraron un aumento significativo en la frecuencia de los eventos de exploración durante la noche en relación al día.

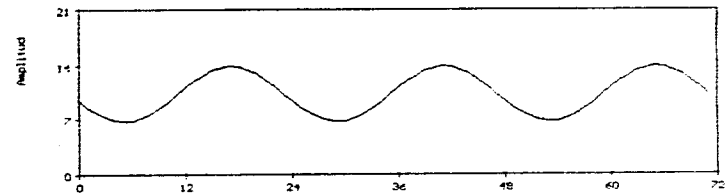
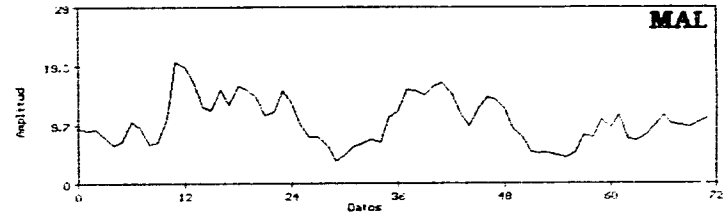
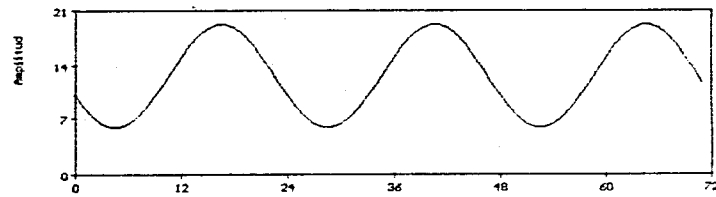
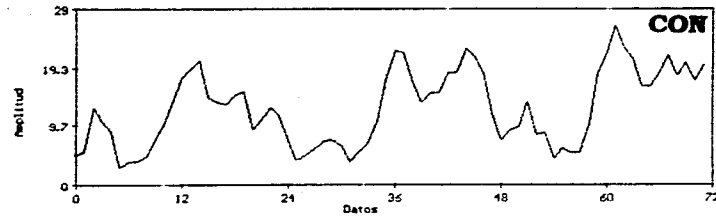


Fig. 14: Ajuste Cosinor de la categoría de Aseo, de ratas adultas controles y malnutridas crónicamente de 60 días de edad. En la parte superior se muestra el perfil de actividad con los datos obtenidos mediante los registros conductuales. En la parte inferior se muestra el ajuste de los datos a una curva cosenoidal, entre los parámetros que mostraron modificaciones asociadas a la condición nutricional de los animales fueron la amplitud y el mesor del ritmo, en los cuales el grupo MAL mostraron un marcado decremento.

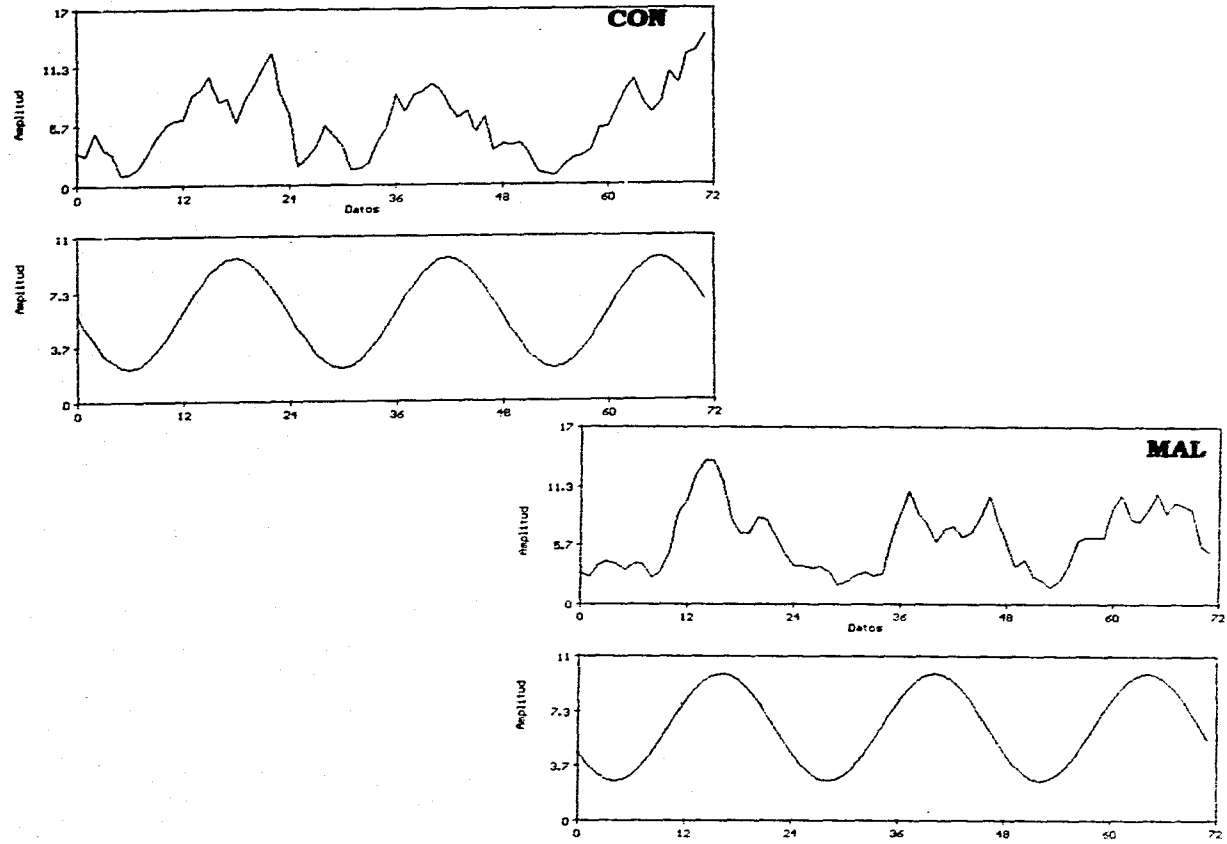


Fig. 15: Perfil de actividad (gráfica superior) y Ajuste Cosinor (gráfica inferior) de la categoría de Exploración, de ratas adultas controles y malnutridas crónicamente, en la cual se observaron tendencias similares en ambos grupos en cuanto la amplitud y mesor. En lo que se refiere a la acrofase el grupo MAL presentó un adelanto de aproximadamente dos horas, en comparación al grupo testigo.

En la arquitectura del ritmo, por medio del ajuste a una curva coseno (Tabla 8), se encontró que los parámetros de mesor y el porcentaje de ritmicidad no mostraron diferencias importantes entre ambos grupos nutricionales; que el ritmo efectivamente posee un periodo cercano a las 24 horas, periodo que fue validado por este mismo método. El único parámetro que presentó diferencias entre los grupos nutricionales, fue la acrofase, en la cual las ratas MAI exhibieron un adelanto de aproximadamente dos horas.

CONDUCTAS INGESTIVAS: Al igual que en las categorías anteriores la ocurrencia de eventos de este patrón conductual es rítmico y con un periodo de aproximadamente 24 horas. El principal efecto asociado a la condición nutricional de los sujetos se manifestó como una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) del número de eventos de esta conducta durante la noche en los animales MAI, efecto que predominantemente se observó en la primera mitad de esta fase del día (las 20, 23 y 02 horas geográficas) como se observa en el perfil de actividad de la figura 16.

Mediante el ajuste a Cosinor, se observó la misma tendencia que en la categoría de aseo, en donde las diferencias más conspicuas entre los grupos nutricionales fueron un marcado decremento en el mesor y la amplitud del ritmo en los animales sometidos a malnutrición; mientras que la acrofase obtenida por el ajuste no se presentó modificaciones asociadas a la condición nutricional y en ambos grupos se encontró que ésta se encuentra aproximadamente a las 00:00 horas geográficas (Tabla 8).



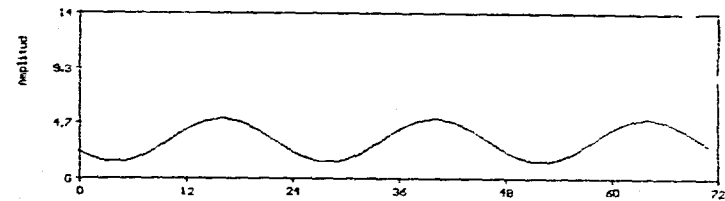
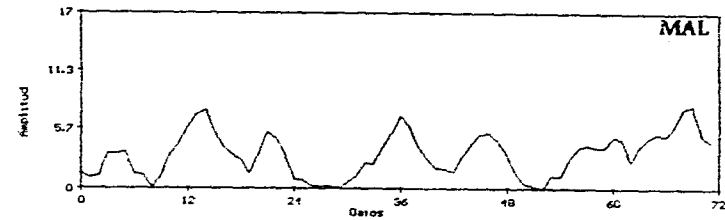
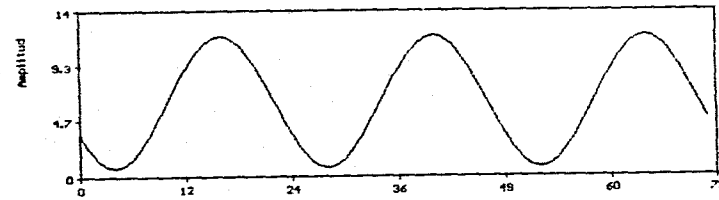
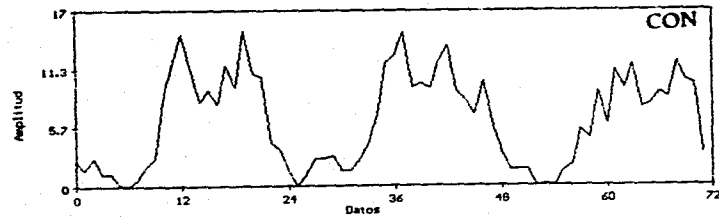


Fig. 16: Ajuste Cosinor (gráfica inferior) y perfil de actividad (gráfica superior) de la categoría de Conductas Ingestivas, de ratas adultas controles y malnutridas. Al igual que en la categoría de aseo, se observó una disminución en los parámetros de amplitud y mesor por parte de los animales sometidos a malnutrición crónica, mientras que la acrofase de esta conducta fue similar en ambos grupos, encontrándose aproximadamente a las 01:00 horas.

TABLA 8: Ajuste cosinor de la actividad espontánea, dividida en categorías conductuales, de ratas adultas sometidas a malnutrición crónica y sus controles

ASEO

Grupo	Mesor	Amplitud	Acrofase (grados horas)	% de ritmicidad
CON	12.36	6.72	-8.47° 00:00	58.9
MAL	10.31	3.60	-16.78° 00:00	45.4

EXPLORACIÓN

CON	5.90	3.67	-27.65° 03:00	61.7
MAL	6.26	3.61	-2.20° 00:00	68.8

CONDUCTAS INGESTIVAS

CON	6.26	5.33	-359.8° 00:00	75.3
MAL	3.24	1.82	0.0008° 00:00	37.7

## V. DISCUSIÓN

La conducta de consumo de alimento de los animales CON mostró una distribución circádica con un período cercano a las 24 horas, presentando durante la noche un incremento importante de los eventos de consumo de alimento, y con una notoria disminución durante la fase de luz, durante la cual la conducta se vio prácticamente depletada. Estos resultados conductuales muestran una estrecha relación con la cantidad de alimento consumido, en donde la mayor proporción de alimento consumido por estos animales ocurre durante la noche. Estos datos son análogos a observaciones previamente reportadas por LeMagnen y Devos (1970), en donde se ha constatado que en la rata, que es un roedor nocturno, la actividad de consumo de alimento se concentra en la fase oscura del ciclo de 24 horas.

En las series de tiempo obtenidas de los sujetos del grupo MAL se observó que este patrón rítmico de consumo de alimento posee un período dentro del rango circádico. Posiblemente uno de los efectos más importantes que tuvo la malnutrición sobre esta conducta rítmica, se presentó durante el día, en donde los eventos de consumo no mostraron el marcado decremento que fue observado en los controles. Esto provocó a que la amplitud del ritmo fuera menor; de tal forma que la persistencia de estos eventos diurnos exhibidos por los animales MAL contrarrestaran la deficiencia en cuanto al nivel conductual observado durante la noche, observaciones que también son congruentes con las mediciones de la cantidad de alimento consumido en proporción al peso corporal. El incremento en el consumo de alimento durante el día puede deberse a que la dieta a la que se expusieron las animales MAL provee cantidades deficientes de proteína, y posiblemente el alimento que consumieron los animales MAL durante la noche pudo resultar insuficiente para mantener sus requerimientos metabólicos, de manera que estos animales precisaron en repetidas ocasiones durante el día volver a consumir alimento. De ser así, esto se vio manifestado en este estudio por la aparición de eventos de consumo durante el día y por el aumento significativo de la cantidad de alimento consumida durante esta misma fase del día; tendencia que difiere con el patrón observado en los sujetos control.

En el patrón circádico de consumo de alimento de los animales sometidos a malnutrición crónica, se observó que el inicio de la actividad no coincidía con la hora en que fueron apagadas las luces, delimitando el inicio de la noche, tal como se observó en el grupo testigo en el grupo testigo; lo cual posiblemente se deba a alteraciones en el sistema aferente, que tendría como consecuencia modificaciones en la transmisión de la información visual acerca del fotoperiodo al reloj biológico, manifestándose un deficiente ajuste de fase por parte de los animales malnutridos.

Lo anteriormente señalado nos lleva a proponer que el consumo de dietas deficientes en proteínas, como es el caso de la dieta de 6% de caseína, modifican el patrón circádico de alimentación, lo cual a su vez puede tener efectos sobre la expresión de otros ritmos circádicos, como lo son los patrones de sueño, citados previamente y patrones conductuales.

La relevancia del ritmo de ingesta de alimento reside en que los patrones circádicos de neurotransmisores, hormonas y enzimas, se encuentran estrechamente influenciados por el patrón de alimentación y las alteraciones de dicho patrón pueden modificar otros procesos cerebrales o conductuales (Morgane y col., 1978; Anderson y col., 1979).

Existe un solo trabajo en la literatura elaborado por Hall (1978), que explora los efectos de la malnutrición sobre los patrones circádicos de ingesta de alimento y agua, en el cual realizaron mediciones cada 6 horas de la cantidad de alimento y agua consumidos en ratas sometidas a malnutrición. Hall observó que las diferencias más conspicuas ocurren en la segunda mitad de la fase de luz, en donde las ratas malnutridas ingieren menor cantidad de alimento que los animales controles y en la segunda mitad de la fase oscura, en donde las ratas malnutridas ingieren mayor proporción que los controles; proponiendo un retraso de fase del ritmo circádico de consumo de alimento. Estos datos se contraponen totalmente con las observaciones realizadas en el presente estudio, sin embargo los métodos de muestreo son totalmente diferentes, ya que Hall realizó pocas y muy distanciadas observaciones.

Mediante el muestreo de la actividad espontánea se encontró que en todas las categorías conductuales contempladas, los animales CON y MAL mostraron una clara distribución circádica, con un periodo cercano a las 24 horas.

En los registros conductuales obtenidos de los animales MAI, se encontró que existen categorías conductuales que son más susceptibles a ser alteradas en su arquitectura circádicas que otras, como es el caso de las conductas de aseo y las conductas ingestivas, observándose en la ratas MAI, marcadas disminuciones de la amplitud y mesor de estas categorías, así como adelantos de la acrofase de aproximadamente una hora. Por lo contrario para los patrones de exploración sus valores de amplitud y mesor fueron similares a los obtenidos en el grupo CON, y únicamente se encontró un adelanto de la acrofase de la conducta de aproximadamente dos horas. Resulta interesante resaltar que la conducta de aseo se encuentra estrechamente relacionada a las conductas ingestivas, ya que las ratas aumentan su aicalamiento después de cada evento de alimentación. Así, las alteraciones observadas en el aseo pueden ser reflejo de los cambios que sufre la conducta de ingesta de alimento.

En un estudio similar Cipolla-Neto y col. (1987) realizaron un muestreo de las mismas conductas que fueron contempladas en este estudio y en el que también se utilizó el método cosinor, con lo cual encontraron que la conducta de aseo muestra modificaciones en los que se refiere al mesor y amplitud, siendo que los valores observados en los animales malnutridos eran menores a los obtenidos en el grupo controles, datos que concuerdan con los obtenidos en este estudio. En lo que se refiere a la categoría de exploración el grupo de Cipolla-Neto reporta que los animales malnutridos poseen un mesor, amplitud y acrofase similar a la observada a su grupo control, datos que coinciden con los datos obtenidos en nuestro trabajo, con excepción de la acrofase en la cual en el presente trabajo encontramos modificaciones asociadas a la condición nutricional de los sujetos. Por otra parte, en la conducta de ingesta de alimento los animales malnutridos exhibieron un incremento en el mesor, la amplitud del ritmo y marcadas diferencias en la acrofase, resultados que se contraponen totalmente a los observados en el presente trabajo y esto posiblemente se debe a que la forma en que se caracterizaron las conductas sea diferente, o bien a que al número de animales utilizados por Cipolla-Neto sea insuficiente (malnutridos  $n=4$ , controles  $n=4$ ) ya que por lo general se observa una gran variabilidad de la conducta, lo cual hace indispensable aumentar el número de animales bajo registro.

Con base en los resultados obtenidos de la actividad espontánea, la administración de dietas hipoproteínicas durante las etapas pre y postnatal, produce alteraciones en la arquitectura de patrones conductuales rítmicos, principalmente en lo que se refiere a una disminución de la amplitud, mesor y en algunos casos adelantos de la acrofase. La disminución en el mesor y en la amplitud puede ser resultado de una baja actividad general de las ratas MAL posiblemente debido a su estado precario de alimentación, y también puede ser manifestación del incremento de actividad durante la fase de luz, lo cual hace poco marcada la diferencia de actividad entre el día y la noche. En estudios de ontogenia de ritmos circádicos se ha observado que la disminución en la amplitud se asocia a procesos de deterioro del sistema nervioso, principalmente durante la vejez (Davis, 1981). En este sentido, este parámetro puede reflejar un deterioro en el malnutrido crónico. Pero además, este efecto sobre la expresión de conductas rítmicas se presenta de forma diferencial, observándose que existen conductas más susceptibles que otras a los efectos de la malnutrición. A pesar de estas modificaciones los animales malnutridos parecen tener una buena adaptación con el medio ambiente, ya que la distribución de las conductas poseen un periodo dentro del rango circádico y pareciera que esta disminución en la amplitud de patrones conductuales específicos, como la conducta de asco, fuera una estrategia para conservar sus niveles energéticos.

Pittendrigh y col. (1991) en sus observaciones realizadas en *Drosophila* proponen que la importancia de la amplitud de las oscilaciones circádicas reside, en que a diferencia del periodo, esta es marcadamente dependiente de la temperatura ambiental y que esta responde a presiones de selección en donde la amplitud de las oscilaciones diarias de un marcapasos declina a medida que la duración del pulso de sincronización (fotoperiodo) se incrementa. Además la duración de los fotoperiodos diarios a lo largo de la temporada de apareamiento esta marcadamente incrementada a medida que uno se mueve hacia los polos. Finalmente proponen que debido a que la amplitud de los movimientos diarios del marcapasos responde sistemáticamente a los cambios en el fotoperiodo, la amplitud es en cierta forma (y de una forma dependiente a la temperatura) como el sistema circádico puede sentir los cambios de estaciones.

## VI. CONCLUSIONES

- Se encontró que la expresión de las conductas estudiadas preservaron su ritmicidad, con un periodo cercano a las 24 horas, por lo que a pesar de las alteraciones morfológicas en el núcleo supraquiasmático de animales malnutridos, no son determinantes para modificar el funcionamiento de esta estructura como generador de las oscilaciones dentro del sistema circádico.
- En casi todos los patrones conductuales estudiados, se encontró que las diferencias más conspicuas entre grupos nutricionales se presentaron en los parámetros de mesor y la amplitud, los cuales mostraron un marcado decremento en los animales malnutridos, lo cual posiblemente se deba a su precario estado de alimentación o bien pueda deberse al incremento de la actividad que muestran estos animales durante el día.
- Con base en los resultados anteriormente señalados proponemos que el consumo de dietas deficientes en proteínas, como es la dieta de 6% de caseína, modifican el patrón circádico de alimentación, lo cual a su vez puede ejercer influencia selectiva sobre la expresión de otros ritmos circádicos.
- Las observaciones realizadas de la actividad espontánea, revelaron que existen categorías conductuales más susceptibles a ser alteradas por la malnutrición, tal como se observó en las categorías de aseo y conductas ingestivas.

## VII. REFERENCIAS

- Aguilar-Roblero, R.; Drucker-Colin, R. y Moore, R.Y. (1992): Behavioral and morphological studies of fetal neural transplants into SCN-lesioned rats. *Chronobiology International* **9**: 278-296.
- Aguilar-Roblero, R. y Vega-González, A. (1993): Splitting of locomotor circadian rhythm in hamsters facilitated by pinealectomy. *Brain Research* **605**:229-236.
- Aguilar-Roblero (1993): Teorías básicas sobre los ritmos biológicos. *Psiquis* **6**: 12-32.
- Aguilar-Roblero (1994): En la búsqueda del tiempo: Sobre los mecanismos que regulan el orden temporal en los mamíferos. *Ciencia y Desarrollo*, **115**:30-45
- Aguilar-Roblero, R.; Salazar-Juarez, A.; Rojas-Castañeda, J.; Escobar, C. y Cintra, L. (1996): Organization of circadian rhythmicity and suprachiasmatic nucleus in Malnourished rats. *En Prensa*.
- Ahmed, M.G.E., Bedi, K.S., Warren, M.A. y Kamel, M.N. (1987): Effect of a lengthy period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse: Granule cell neuron ratio in the rat dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology* **263**: 146-158.
- Altman, J., Sudarshan, K., Das, D., McCormick, N. y Barnes, D. (1971): The influence of nutrition on neural and behavioral development: III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. *Developmental Psychobiology*, **4**: 97 - 114.
- Altman, J.; Das, G.; Sudarshan, K. (1980): 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* **4**: 281-301.
- Anderson, G.H. (1979): Control of Protein and Energy Intake: Role of Plasma Amino Acids and Brain Neurotransmitters. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* **10**: 1043-1054.
- Armstrong, S.M. y Chesworth, M.J. (1987): The pineal gland. En: *Fundamental and clinics in pineal research*. Trentin, G.P.; de Gaetani, C. y Pevet, P. (Eds.); Raven Press, New York, USA. Pp.195.
- Aronson, et. al. (1993): Circadian rhythms. *Brain Research Reviews* **18**: 315-333.
- Aronson, B.D.; Johnson, K.A.; Loros, J.J.; Dainlap, J.C. (1994): Negative feedback defining a circadian clock: Autoregulation of the clock gene frequency. *Science* **263**: 1578-1584.



- Aschoff, J. (1981): A survey on Biological Rhythms. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology, Vol. 4 Biological Rhythms*. Plenum Press, New York, USA. Pp: 3-10.
- Aschoff, J. (1981): The circadian system of man. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology, Vol. 4 Biological Rhythms*. Plenum Press, New York, USA. Pp: 311-332.
- Barnes, D. y Altman, J. (1973): Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning growth of the rat cerebellum. *Experimental Neurology* 38: 406-419.
- Bedi, K.S. (1992): Spatial learning ability of rats undernourished during early postnatal life. *Physiology and Behavior* 51: 1001-1007.
- Biel, W.C. (1939): The effect of early inanition on a developmental schedule in the albino rats. *Journal of Comparative Psychology* 28: 1 - 15.
- Castro, C.A. y Rudy, J.W. (1989): Early-life malnutrition impairs the performance of both young and adult rats on visual discrimination learning tasks. *Developmental Psychobiology* 22: 15-28.
- Cassone, V.M. (1991): Melatonin and suprachiasmatic nucleus. En: *Suprachiasmatic Nucleus, The Minds Clock*. (Eds.) Klein, D.C.; Moore, R.Y.; Reppel, S.M. Oxford University Press, New York, U.S.A. Pp. 309-323.
- Cintra, L., Diaz-Cintra, S., Galván, A., y Morgane, P.J. (1988): Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos Mexico* 36: 3-17.
- Cintra, L.; Galván, A.; Diaz-Cintra, S. y Escobar, C. (1994): Protein malnutrition on suprachiasmatic nucleus cells in the rats of three ages. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos Mexico* 42: 11-19.
- Cipolla-Neto, J.; Recine, E.G.I.G.; Mena-Barrenfo, L.S.; Marques, N.; Afèche, S.C.; Schott, C.; Fortunato, G. y Hallberg, F. (1987): Perinatal malnutrition, suprachiasmatic nuclear lesioning, and circadian-ultradian aspects of spontaneous behavior of albino rats. *Advances in Chronobiology, Part.B*, Pp:473-489.
- Coleman, G.J.; Harper, S.; Clarke, J.D.; Armstrong, S. (1982): Evidence for a separate meal-associated oscillator in the rat. *Physiology and Behavior* 29: 107-115.
- Davis, F.C. (1982): Ontogeny of circadian rhythms. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology, Vol. 4 Biological Rhythms*. Plenum Press, New York, USA. Pp: 257-274.
- Debassio, W.A. y Kemper, T.L. (1985): The effect of protein deprivation on neural migration in rats. *Developmental Brain Research* 20: 191-196.
- Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Ortega, A., Kemper, T., y Morgane, P.J. (1990): Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of three age groups. *Journal of Comparative Neurology* 292: 117-126.

- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Galván, A., Aguilar, A., Kemper, T. y Morgane, F.J. (1991): Effects of prenatal protein deprivation on postnatal development of granule cells in the fascia dentata. *Journal of Comparative Neurology* 310: 356-364.
- Dobbing, J. (1970): Undernutrition and the developing Brain. *Developmental Neurobiology*. Ed. by W. Himmewick. Pp. 24-261.
- Dobbing, J. and Sands, J. (1971): The effect of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth spurt. Vulnerability of developing Brain, *Biol. Neonate* 19: 363-378.
- Dobbing, J. (1990): Vulnerable periods in developing brain. En: *Brain, Behavior, and Iron in the Infant Diet*. Springer-Verlag, London, U.K. : 1-25.
- Drucker-Colin, R.; Aguilar-Roblero, R.; García-Fernández, F.; Fernández-Cancino, F. y Bermúdez-Rattoni, F. (1984): Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: diurnal rhythm recovery of lesioned rats. *Brain Research*, 311:353-357.
- Escobar, C. (1987): Efectos de la desnutrición y de la estimulación sensorial temprana sobre el desarrollo y la conducta de la rata. *Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas UCPT, CCH*. pp. 64.
- Escobar, C. y Salas, M. (1993): Neonatal undernutrition and amygdaloid complex development: an experimental study in the rat. *Experimental Neurology* 122: 311-318.
- Escobar, C. y Salas, M. (1995): Dendritic branching of claustral neurons in neonatally undernourished rats. *Biology of the Neonate* 68: 47-54.
- Forbes, W.B.; Tracy, C.A.; Resnick, O.; Morgane, F.J. (1977): Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Experimental Neurology* 57: 440-450.
- Forbes, W.B.; Tracy, C. A.; Stern, W.C.; Resnick, O. y Morgane, J. (1977): Effect of Protein Malnutrition on Short Light/Dark Cycle Modulation of REM Sleep in the Rat. *Sleep Research Vol. 6. Brain Information Service, Brain Res. Inst. Los Angeles, USA*. Pp. 50.
- Frankova, S. (1973): Effect of protein-calorie malnutrition on the development of social behavior in rats. *Developmental Psychobiology* 6: 33 - 43.
- García-Ruiz, M.; Díaz-Cintra, S.; Cintra, L. y Corkidi, G. (1993): Effect of protein malnutrition on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of three ages. *Brain Research* 625: 203-212.
- García-Ruiz, M.; Parra, I. y Díaz-Cintra, S. (1994): Los Efectos de la Desnutrición sobre los Procesos de Aprendizaje y Memoria en Modelos Animales. *Revista Biomédica* 5: 88-108.

- Goodlett, C.R., Valentino, M.L., Morgane, P.J. y Resnick, O. (1986): Spatial cue utilization in chronically malnourished rats: task-specific learning deficits. *Developmental Psychobiology* 19: 1-15.
- Gramsbergen, A. y Westerga, J. (1992): Locomotor development in undernourished rats. *Behavioral Brain Research* 48: 57-64.
- Granados, D.; Salazar, A.; Vergara, P.; Escandón, J.; Vega, A.; Aguilar-Roblero, R. (1995): Los ritmos circádicos en mamíferos: conceptos, implicaciones y bases biológicas. En: *Temas selectos de neurociencias*. J. Velazquez (Ed.) UAM, México. Pp. 433-458.
- Griffin, W.S.T., Woodward, D.J., Chanda, R. (1977): Malnutrition and brain development: cerebellar weight, DNA, RNA, protein and histological correlations. *Journal of Neurochemistry* 28: 1269-1279.
- Hallberg, E. (1959): Physiologic 24-hour periodicity: general and procedural considerations with reference to the adrenal cycle. *Vitamin - Hormone - Fermentforsch.* 10: 225-96.
- Hall, W. (1975): Weaning and growth of artificially reared rats. *Science* 190: 1313-1315.
- Hall, R.D., Forbes, W.B. y Robertson, W.M. (1978): The effects of protein malnutrition on the rat's circadian patterns of food and water intake. *Nutrition Reports International* 18: 713-720.
- Hall, R., Leahy, J. y Robertson, W. (1979): The effect of protein malnutrition on the behavior of the rats during the suckling period. *Developmental Psychobiology* 12: 455-466.
- Hardin, P.E.; Hall, J.C. y Robash, M. (1990): Feedback of the *Drosophila* period gene product on circadian cycling of messenger RNA levels. *Nature* 343: 536-540.
- Harper, A.E. (1967): Effects of dietary protein content and amino acid pattern on food intake and preference. *Handbook of Physiology* 1: 399-410.
- Hillman, D.E. y Chen, S. (1981): Vulnerability of cerebellar development in malnutrition -II. Intrinsic determination of total synaptic area on Purkinje cell spines. *Neuroscience* 6: 1263-1275.
- Ibuka, N. y Kawamura, H. (1975): Loss of the circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesion. *Brain Research* 96: 76-81.
- Inouye, S.T. y Kawamura, H. (1979): Persistence of circadian rhythmicity in mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5962-5966.
- Jordan, T.C., Cane, S.E. y Howells, K.F. (1981): Deficits in spatial memory performance induced by early undernutrition. *Developmental Psychobiology* 14: 317-325.

- Johnson, R.F.; Moore, R. y Morin, L.F. (1988): Loss of entrainment and anatomical plasticity after lesions of the hamster retinohypothalamic tract. *Brain Research* 460: 297-313.
- Kemper, J. (1978): Effect of a low protein diet on the anatomical development of subcortical formations. *Brain Research Bulletin* 8: 443-450.
- Klein, D.C., Moore, R.Y. y Reppert, S.M. (1991): *Suprachiasmatic nucleus: The mind's clock*. Oxford University Press, New York, USA.
- Krieger, D.T.; Hauser, H. y Krey, L. (1977): Suprachiasmatic nuclear lesion do not abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. *Science* 197: 398-399.
- LeMagnen, J. y Devos, M (1970): Metabolic correlates of the meal onset in the free food intake of rats. *Physiology and Behavior* 5: 805-814.
- Levitsky, D. (1975): Malnutrition and animals model of cognitive development. En: *Nutrition and Mental Functions. Proceedings of Kitay Scientific Foundation*. New York: Plenum Press: pp. 75-89.
- Lewis, et. al (1975): The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Research* 83: 235-247.
- Martin, P. y Bateson, P. (1988): Recording methods. En: *Measuring Behavior, an introductory guide*. Cambridge University Press, New York, U.S.A. Pp. 48-69.
- Massaro, T., levitsky, D. y Barnes, R. (1977): Protein malnutrition induced during gestation: It's effect on pup development and maternal behavior. *Developmental Psychobiology* 10: 339-345
- McArthur, A.J.; Gillette, M.U. y Prosser, R.A. (1991): Melatonin directly resets the rat suprachiasmatic circadian clock in vitro. *Brain Research* 565:158-161.
- Menaker, M. y Binkley, S. (1981): Neural and endocrine control of circadian rhythms in the vertebrates. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology, Vol. 4 Biological Rhythms*. Plenum Press, New York, USA. Pp. 243-255.
- Minors, D.S. y Waterhuose (1981): Introduction and methods of study. En *Circadian rhythms and the Human*. John Wright & Sons LTD. England. Pp. 1-23.
- Minors, D.S. y Waterhuose (1981): Appendix. En *Circadian rhythms and the Human*. John Wright & Sons LTD. England. Pp. 311-319.
- Moore, R. y Eicher, V.B. (1972): Loos of the circadian corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research* 42: 201-206.
- Moore, R. y Lenn, N.J. (1972): A retinohypothalamic projections in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 146: 1-14.

- Moore, R. (1973): Retinohypothalamic projections in mammals: A comparative study. *Brain Research* 49: 403-409.
- Moore, R. (1979): The retinohypothalamic tract, suprachiasmatic hypothalamic nucleus and central mechanisms of circadian rhythms regulation. *In: Biological Rhythm and their Central Mechanism*. Suda, M.; Hayaishi, O. y Hakawa, H. (Eds.) Elsevier, North Holland Biomedical, Amsterdam. Pp.343-354.
- Moore, R. (1983): Organization of a central nervous system circadian oscillator: The suprachiasmatic nucleus. *Federation Proceedings* 42: 2783-2789.
- Moore, R. (1991): The suprachiasmatic nucleus and the circadian timing system. *In: Suprachiasmatic Nucleus, The Minding Clock*. Klein, D.C.; Moore, R.; Kepperl, S.M. (Eds.), Oxford University Press, New York, USA. Pp.15-16.
- Moore-Ede, M.C., Sulzman, F.M. y Fuller, C.A. (1982): *The clocks that time us: Physiology of the circadian timing system*. Harvard University Press, USA, Pp. 448.
- Morgane, F., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, E., Hawrylewicz, E. y Resnick, O. (1978): The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neuroscience Biobehavioral Review* 2: 137-230.
- Morgane, F.J.; Austin, K.B.; Siok, C.S.; LaFrance, R.J. y Bronzino, J.D. (1985): Power spectral analysis of hippocampal and cortical EEG activity following severe prenatal protein malnutrition in the rat. *Developmental Brain Research* 22: 211-218.
- Morgane, F.J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. y Galler, J. (1993): Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 17: 91-128.
- Mourek, J., Hinwick, W.A. (1967): The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in rat. *Brain Research* 6: 241-251.
- Nagai, K. y col. (1978): Effect of bilateral lesion of the suprachiasmatic nucleus on the circadian rhythm of food intake. *Brain Research* 142: 384-389.
- Oppenheimer, A.V.; Young, I.T. y Willsky, A.S. (1983): Filtering. *In: Signals and Systems*. Prentice-Hall; Englewood Cliff (De.). ew ew ersey, U.S.A. Pp.397-452.
- Pickard, G.E. y Turek, F.W. (1982): Splitting of the circadian rhythm of activity is abolished by unilateral lesion of suprachiasmatic nuclei. *Science* 215: 1119-1121.
- Pittendrigh, C.S. y Daan, S. (1976): A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemaker structure: A clock for all seasons. *Journal of Comparative Physiology* 106: 333-335.

- Pittendrigh, C.S.(1981) Circadian Systems: General Perspective. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology, Vol. 4 Biological Rhythms*. Plenum Press, New York, USA. Pp. 57-80.
- Pittendrigh, C.S.; Kyner, W.T. y Takamura, T. (1991): The amplitude of circadian oscillations: Temperature dependence, latitudinal clines, and the photoperiodic time measurement. *Journal of Biological Rhythms* 6: 299-313.
- Quirk, G.J.; Mejia, W.R.; Hesse, H. y Su, H. (1995): Early Malnutrition followed by nutritional restoration lowers the conduction velocity and excitability of the corticospinal tract. *Brain Research* 670: 277-282.
- Reinberg, A. y Smolensky, M. (1993): Introduction to chronobiology. En: *Biological Rhythms and Medicine*. A. Reinberg y M. Smolensky (Eds.) Springer-Verlag, New York, USA. Pp. 1-22.
- Reinberg, A. y Smolensky, M. (1993): Investigative methodology for chronobiology. En: *Biological Rhythms and Medicine*. A. Reinberg y M. Smolensky (Eds.) Springer-Verlag, New York, USA. Pp. 23-46.
- Resnick (1988): Nutrition, neurotransmitter regulation and developmental pharmacology. En: *Preventive and curative intervention in mental retardation*. Menelascino, F.J. y Stark, J.A. (Eds.). Paul H. Brookes, Baltimore, U.S.A. Pp. 161-175.
- Ribak, C.E. y Peters, A. (1972): An autoradiographic study of projections from lateral geniculate body of the rat. *Brain Research* 92: 341-368.
- Rosewell, K.J.; Siwicki, K.K.; Wise, P.M. (1991): A period (per)-like protein exhibits daily rhythmicity in the suprachiasmatic nuclei of the rat. *Brain Research* 659: 231-236.
- Rudy, J.W. y Castro, C.A. (1990): Undernutrition during the brain growth period of the rat significantly delays the development of processes mediating Pavlovian trace conditioning. *Behavioral and Neural Biology* 53: 307-320.
- Rusak, B. y Zucker, I. (1975): Biological rhythms and animal behavior. *Annual Review of Psychology* 26: 137-171.
- Rusak, B. y Zucker, I. (1979): Neural regulation of circadian rhythms. *Physiology and Behavior* 59: 449-526.
- Rusak, B. y Groos, G. (1982): Suprachiasmatic stimulation phase shifts rodent circadian rhythms. *Science* 215: 1407-1409.
- Salas, M. y Cintra, L. (1973): Behavioral effects of undernutrition on the neonatal rat. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos México*. 28: 23-27

- Salas, M. y Cintra, L. (1975): Development of electrocorticogram during starvation in the rat. *Physiology and Behavior* 14: 589-593.
- Salas, M., Torrero, C. y Pulido, S. (1984): Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiology and Behavior* 33: 273-278.
- Salas, M., Ruiz, C., Torrero, C. y Pulido, S. (1985): Neonatal food restriction: Its effects on the sleep cycles and vigil behavior of adult rats. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos México* 32: 209-215.
- Salas, M., Torrero, C. y Pulido, S. (1986): Undernutrition induced by early pup separation delays the development of the thalamic reticular nucleus in rats. *Experimental Neurology* 93: 447-455.
- Salas, M., Pulido, S., Torrero, C. y Escobar, C. (1991): Neonatal undernutrition and self grooming development in the rat. Long-term effects. *Physiology and Behavior* 50: 567-572.
- Salazar-Juarez, A. (1996): Efecto de la desnutrición proteica sobre el ritmo de ingesta de agua en rata. *Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas Fisiología UCPT, CCH*. pp. 81.
- Schönheit, B. y Haensel, P. (1989): Neurohistological study of the dendrites of lamina V-pyramidal neurons of the rat following recovery from postnatal malnutrition. *J. Hirnforschung* 30: 385-397.
- Schwarz, W.J.; Gainer, H. (1977): Suprachiasmatic nucleus: Use of <sup>14</sup>C labeled deoxyglucose as functional marker. *Science* 197: 1089-1091.
- Schwartz, W.J.; Davidsen L. C. and Smith C.B. (1980): In vivo metabolic activity of a putative circadian oscillator, the rat suprachiasmatic nucleus. *Journal of Comparative Neurology* 189: 157-167.
- Schwartz, W.J.; Coleman, R.J. y Reppert, S.M. (1983): A daily vasopressin rhythm in rat cerebrospinal fluid. *Brain Research* 263: 105-112.
- Shibata, S.; Oomura, Y.; Kita, H. y Hattori, K. (1982): Circadian rhythmic changes of neural activity in the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamic slice. *Brain Research* 247: 154-158.
- Stephan, F.K. Y Zucker, I. (1972): Circadian rhythms in drinking behaviour and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesion. *Proceeding National Academy Sciences* 69: 1583-1586.
- Stephan, F.K. (1992): Resetting of a feeding-entrainable circadian clock in the rat. *Physiology and Behavior* 52: 985-995.

- Swanson, L.W.; Cowan, W.M. y Jones, E.G. (1974): An autoradiographic study of the efferent projections of the ventral lateral geniculate nucleus in the albino rat and cat. *Journal of Comparative Neurology* 136: 143-164.
- Takahashi, J.S. (1993): Circadian clock regulation of gene expression. *Current opinion genetics and development*: 301-309.
- Tonkiss, J. y Smart, J. (1983): Interactive effects of genotype and early life undernutrition on the development of behavior in rats. *Developmental Psychobiology* 16: 287-301.
- Tonkiss, J., Galler, J.R., Shukit-Hale, B. y Rocco, F. (1991): Prenatal protein malnutrition impairs visual discrimination learning in adult rats. *Psychobiology* 19: 247-250.
- Tosini, C. y Menaker, M. (1996): Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science*, 272: 419-421.
- Touitou, Y. y Haus, E. (1994): Chronobiology in laboratory medicine. En: *Biologic rhythms in Clinical and laboratory Medicine*. Touitou, Y. y Haus, E. (Eds.) Springer-Verlag, Berlin, Germany. Pp. 10, 685-690.
- Vega-Gonzalez, A. (1994): Diseño e implantación de un sistema de análisis de señales biológicas en cronobiología. *Tesis de Licenciatura en Ingeniero en Computación, Facultad de Ingeniería U.N.A.M.* Pp. 94.
- Welsh, D.K.; Logothetis, D.E.; Meister, M. y Reppert, S.M. (1995): Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron* 7: 685-709.
- Widdowson, E.M. y McCance, R.A. (1963): The effect of finite periods of undernutrition at different ages on the composition and subsequent development of the rat. *Proceedures of the Royal Society of London* 158:329-342.
- Wiener, S.G., Fitzpatrick, K.M., Levin, R., Smotherman, W.F. y Levine, S. (1977) Alterations in maternal behavior of rats rearing malnourished offspring. *Developmental Psychobiology* 10:243-254.
- Wiener, S., Robinson, L. y Seymour, L. (1983): Influence of perinatal malnutrition on adult physiological and behavioral reactivity in rats. *Physiology and Behavior* 30: 41-50.
- Winick, M. (1994): Prenatal Nutrition and Fetal Brain Development. *Developmental Brain Dysfunction* 7:26-52.
- Zhang, L. y Aguilar-Roblero, R. (1995): Asymmetrical electrical activity between the suprachiasmatic nuclei in vitro. *Neuroreport* 6: 537-540.



## APÉNDICE 1

### *Criterios de Evaluación Conductual*

Cabe mencionar que existen reglas para realizar los registros conductuales mediante los cuales se determina cómo deben de realizarse los registros; lo cual involucra la distinción entre los *registros continuos* y el *muestreo de intervalos* (Martin y Bateson, 1988).

En el *registro continuo* cada ocurrencia del patrón conductual es anotado, así como la información acerca del tiempo de su aparición, este método intenta proporcionar un registro conductual exacto, obteniéndose mediciones tales como la frecuencia, duración y latencia, también el tiempo en el que el patrón conductual comienza y termina. Este tipo de registro es necesario cuando se intenta analizar secuencias conductuales. El registro continuo posee la desventaja que debido a sus características solo pueden ser registradas pocas categorías en un momento dado.

Por otra parte el *muestreo de intervalos* a su vez se subdividen en *muestreo instantáneo* y *muestreo uno-cero*.

a) El Muestreo Instantáneo es un método muy útil para condensar información, haciendo posible el registro de diversas categorías conductuales de forma simultánea. Para tal efecto las sesión de observación se divide en periodos de tiempo sucesivos, a los cuales se les denomina *intervalos de muestreo*. El final de cada intervalo de muestreo es referido como *punto de muestreo*.

Este método consiste en que en cada punto de muestreo, el observador anota el patrón conductual que este desplegando el sujeto. En el caso en que el intervalo de muestreo es corto en relación al promedio de la duración del patrón conductual, este tipo de muestreo puede producir un registro que se aproxima al registro continuo, por los que además de poder obtener la frecuencia de la conducta, también es posible estimar la duración de la conducta.

a) En el *muestreo uno-cero* la sesión también se divide en *intervalos de muestreo* y en cada *punto de muestreo* el observador anota si el patrón conductual bajo estudio ocurre o no durante el intervalo precedente, sin importar que tan seguido o durante cuanto tiempo el patrón conductual se presentó durante el intervalo de muestreo; por lo que la única medición obtenida mediante esta forma de registro es la proporción de número de veces que se observó el patrón conductual en relación a los intervalos de muestreo analizados.

## APÉNDICE 2 Método Cosinor

Las series de tiempo sirven como base para la detección y en su caso para la descripción y cuantificación de fenómenos rítmicos, los métodos cuantitativos para el análisis de estos fenómenos tienen su origen principalmente en las matemática y física.

Halberg y sus colaboradores (1973, En: Reinberg y Smolensky, 1993) desarrollaron una técnica para el análisis de series de tiempo, denominado *método cosinor*, mediante el cual es posible la obtención de tres parámetros:

- La *amplitud* (A) es la magnitud de variabilidad de un ritmo dado. Cuando se utiliza el método cosinor, es numéricamente igual a la mitad de la extensión del cambio para un  $\tau$  considerado.
- El *mesor* (M), es la media del ritmo ajustado. Cuando el intervalo de muestreo de los datos ( $\Delta t$ ) es constante, M es igual a la media aritmética.
- La hora de cresta o *acrofase* ( $\phi$ ), este término se refiere a el tiempo estimado para alcanzar la cresta de un ritmo validado para un periodo en consideración. Cuando se usa el método cosinor,  $\phi$  representa el tiempo de la cresta para el mejor ajuste de los datos.

Este método se realiza a través del ajuste de la serie de tiempo por mínimos cuadrados a una función cosenoïdal (Fig. 17). Con base al siguiente modelo:

$$y(t) = M + A \cos(\omega t + \phi)$$

donde  $t$  tiempo, M mesor, A amplitud,  $\omega$  frecuencia angular ( $\omega = 2\pi/\tau$ ,  $\tau$  periodo,  $1/\tau$  frecuencia),  $\phi$  acrofase.

Se seleccionó la función coseno, debido a que el coseno de cero, es uno, lo que proporciona una referencia de fase sencilla.

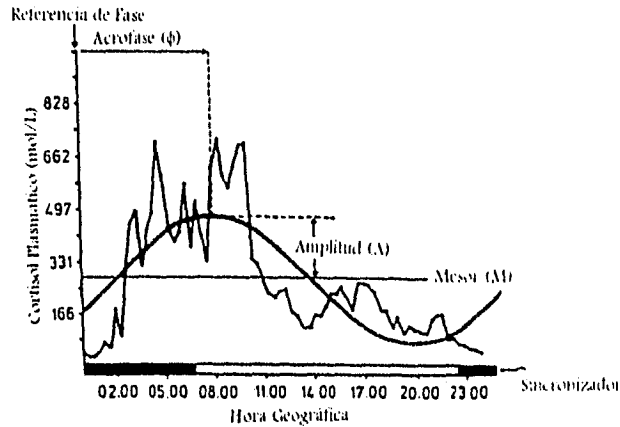


Fig. 17: En esta gráfica se representa el ajuste de una curva coseno a datos obtenidos de niveles de cortisol plasmático, el ajuste se realiza mediante la técnica de mínimos cuadrados y de esta forma son obtenidos los parámetros del ritmo, es decir, el mesor, la amplitud y la acrofase (Ver texto: (Formada de Touitou y Haus, 1994)

Con base en el tipo de datos recolectados debe de ser utilizado *cosinor sencillo* o *cosinor medio*. El cosinor medio es el procedimiento original aplicable para la estimación de los parámetros  $A$  y  $\phi$ , cuando se trata con tres o más series de tiempo biológicas, este método es comúnmente aplicado para estimar las características del ritmo de un grupo o una población. El cosinor sencillo es aplicable a una serie de tiempo compuesta de datos de un individuo (datos serialmente dependientes) o a un grupo de individuos (datos serialmente independientes). Cuando se trata de datos de un grupo de sujetos individuales, las series de tiempo se colocan una al final de la otra, con la opción de ajustar los datos dentro de los primeros valores relativos. Para datos serialmente dependientes sólo el cosinor sencillo es el método apropiado.

La aplicación del método cosinor ofrece grandes ventajas para la cuantificación de fenómenos rítmicos, tales como:

- a) Permite probar objetivamente la hipótesis que la amplitud del ritmo difiere de cero; usualmente la evidencia para la detección de un ritmo es aceptado mediante una prueba  $t$ , cuando la probabilidad ( $P \leq 0.005$ ) de que  $A$  sea cero (Touitou y Hous, 1994).
- b) Así mismo este método estima los límites de confianza para la dispersión de la acrofase.
- c) También proporciona una aproximación de mejor ajuste o bondad de ajuste, como lo es el *porcentaje de ritmicidad (PR)*. La mayoría de los ritmos biológicos no se asemejan de manera exacta a una función coseno, por lo que es importante determinar el porcentaje de datos incluidos en dentro de los límites de confianza.
- d) El método puede utilizarse aún cuando se trata con series de tiempo cortas.
- e) Más aún con el cosinor  $\Delta t$  no necesita ser fijo, ni constante; lo cual significa que los datos perdidos así como cuando se realizan muestreos con intervalos diferentes, son bien tolerados.
- f) Este método también puede ser utilizado diferentes periodos de prueba, con diversos armónicos, que en muchas ocasiones son necesarios para una completa descripción de la forma de la onda del ritmo.

Por otra parte este método posee varias desventajas, ya que cuando se utiliza el método cosinor, en este se asume que los datos están normalmente distribuidos alrededor de cada uno de los puntos de muestreo. Esto puede ser probado examinando los valores residuales resultantes del ajuste de la función de aproximación. Una de sus más marcadas deficiencias de este, es que para su aplicación es necesario conocer de manera a priori el periodo del ritmo, por lo que este método únicamente permite validar a un periodo dado.