

03068

4

28

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



Unidad Académica de los Ciclos Profesional y del
Posgrado del Colegio de Ciencias y Humanidades
CENTRO DE NEUROBIOLOGÍA

ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CORTICAL
ANTES Y DESPUÉS DE LA PRIVACIÓN SELECTIVA DE
SMOR EN RATAS NORMALES Y MALNUTRIDAS.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS
presenta

PILAR DURÁN HERNÁNDEZ

México, D.F.

1995



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RECONOCIMIENTO

EL PRESENTE TRABAJO DE TESIS FUE ELABORADO BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. LEÓN CINTRA MCGLONE EN EL CENTRO DE NEUROBIOLOGÍA DE LA UNAM, MÉXICO, CON EL APOYO DE LOS PROYECTOS DE LA DGAPA IN-202891 E IN-208494.

"AUSENCIA DE EVIDENCIA NO ES EVIDENCIA DE AUSENCIA"

CARL SAGAN "LOS DRAGONES DEL EDÉN"

AGRADECIMIENTOS

UN AGRADECIMIENTO MUY ESPECIAL AL DR. LEÓN CINTRA Y A LA DRA. SOFÍA DÍAZ-CINTRA, POR SUS SIEMPRE OPORTUNOS COMENTARIOS, DIRECCIÓN, ASESORAMIENTO, APOYO, Y CONFIANZA, QUE ME HAN PERMITIDO DESARROLLARME EN EL CAMINO DE LA INVESTIGACIÓN, Y SIN LOS CUALES ESTE TRABAJO NO HUBIERA CONCLUIDO.

AGRADEZCO A LA BIOL. AZUCENA AGUILAR Y AL M. EN C. AGUSTÍN GALVAN POR EL APOYO TÉCNICO RECIBIDO PARA EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.

A MIS COMPAÑEROS DE LABORATORIO LETICIA, AZUCENA, JULIO, IVETT, POR SU COLABORACIÓN, AMISTAD Y APOYO EN TODO MOMENTO.

A PEDRO MEDINA, POR ESTAR SIEMPRE AL PENDIENTE DEL BIOTERIO Y LOS ANIMALES Y AL SR. JOSÉ AVILES POR SU APOYO EN EL TRABAJO DE FOTOGRAFIA.

A MIS AMIGOS, QUE A PESAR DE TODO SIEMPRE HAN CONFIADO EN MÍ Y ME HAN DISPENSADO SU PACIENCIA.

A TODOS AQUELLOS QUE SE ESCONDEN EN MI MEMORIA PERO QUE HAN CONTRIBUIDO CON "SU GRANITO DE ARENA" PARA EL FELIZ TERMINO DE ESTE PROYECTO.

MANIFIESTO MI AGRADECIMIENTO A LOS MIEMBROS DEL JURADO POR LA REVISIÓN DE ESTE MANUSCRITO Y SUS VALIOSOS COMENTARIOS AL RESPECTO:

DR. LEÓN CINTRA MCGLOVE
DRA. MARÍA CORSI CABRERA
DR. JOSÉ MARÍA CALVO Y OTÁLORA
DR. SALVADOR HUITRÓN RESÉNDIZ
DR. MIGUEL ÁNGEL GUEVARA PÉREZ

ÍNDICE

Resumen	I
Summary	II
Introducción	1
Antecedentes	3
Desarrollo cerebral	3
a) Períodos críticos de Desarrollo Cerebral	3
b) La Nutrición inadecuada y el desarrollo cerebral	5
La formación hipocámpica: El generador del Ritmo Theta	7
El circuito trisináptico hipocámpico	8
Ritmo Theta	8
Características Generales del Ciclo sueño-vigilia	11
a) Desarrollo	11
b) Neurofisiología del sueño. Integración de la actividad cerebral	11
c) Estados de vigilancia en el ciclo de Sueño y Vigilia	14
Vigilia (VIG)	15
Sueño del Ondas Lentas (SOL)	16
Sueño con Movimientos Oculares Rápidos (SMOR)	17
d) Regulación del Sueño	19
Privación de Sueño	20
Los ritmos circadianos y el Núcleo Supraquiasmático (NSQ)	21
El modelo de doble proceso para la regulación del sueño	22
Características poligráficas del sueño en la rata	26
Análisis Espectral	27
Estudios sobre malnutrición proteínica y alteraciones en sueño	30
Hipótesis	41
Objetivo General	42
Objetivos específicos	42
Material y Método	43
Animales	43
Método de malnutrición	43
Dietas	43
Método de privación selectiva de SMOR	44

Procedimiento de registro	44
Análisis Espectral	48
Análisis Estadístico	49
Resultados	50
Plataforma de Privación selectiva de SMOR	50
Análisis de Fourier (espectral)	52
Animales de 30 días de edad	52
Animales de 60 días de edad	56
Discusión	61
Conclusiones	76
Referencias Bibliográficas	77

RESUMEN

La malnutrición proteínica instalada durante los periodos del desarrollo pre y posnatal de la rata, produce, entre otros, alteraciones anatómicas de varias estructuras cerebrales, algunas de ellas involucradas en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Para tratar de comprender las implicaciones funcionales de los efectos orgánicos que se producen sobre el desarrollo de las funciones cerebrales, hemos estudiado la electrofisiología del ciclo de sueño y vigilia en ratas con malnutrición proteínica crónica y prenatal a los 30 y 60 días de edad. Se efectuó el análisis del electrocorticograma (ECoG) mediante análisis espectral. Se analizaron las bandas de frecuencia delta, theta y la actividad rápida así como su ritmicidad circádica en los grupos control (CO), malnutridos crónicos (MA) y con malnutrición prenatal con rehabilitación nutricional posnatal (Rh); cuyos registros electrográficos se obtuvieron durante 24 horas, se capturó la señal del ECoG en una computadora, al día siguiente de este registro se privó a las ratas de SMOR, durante 24 horas y durante 72 horas se registró su recuperación. Se utilizó un ciclo de luz-oscuridad invertido para crear el denominado experimento "conflicto", en el cual, después de la privación, el animal tiene que decidir entre dormir o iniciar su periodo de actividad. El análisis estadístico de las potencias relativas de la actividad cortical, comparando las horas en las que se llevaron al cabo los cambios de oscuridad a luz y viceversa, reveló en los animales malnutridos de 30 días de edad, una disminución significativa de la banda delta en los días 1 y 2 de recuperación, no así en los rehabilitados. Los animales malnutridos, al ser comparados con los rehabilitados mostraron una reducción significativa en el día 2 de recuperación en la banda de frecuencia theta. La banda de actividad rápida se encontró aumentada de manera estadísticamente significativa en la potencia relativa de los animales malnutridos durante el día basal y los 3 días de recuperación, en tanto que los Rh mostraron reducciones significativas en el día basal y el tercer día de recuperación. Los animales de 60 días, malnutridos y rehabilitados revelaron aumento estadísticamente significativo de la banda de frecuencia theta lento (4.0-7.0 Hz), y rápido (7.0-12.0 Hz) en diversos días del estudio. De estos estudios se desprende que la malnutrición crónica produce alteraciones en la manifestación fisiológica de los estados de vigilancia y la actividad eléctrica cortical, y que la rehabilitación nutricional posnatal amortigua las alteraciones producidas por la malnutrición prenatal, pero no revierte los efectos producidos en la actividad eléctrica cerebral. Por otro lado, se sabe que hay alteraciones en la síntesis de proteínas producidas por la dieta hipoproteínica y se ha sugerido que probablemente esto provoque los retrasos y avances de fase circádicos observados en los animales malnutridos crónicos y los rehabilitados de 30 y 60 días de edad. Asimismo, se han reportado daños anatómicos en el hipocampo provocados por este modelo de malnutrición (Díaz-Cintra et al. 1994), lo que puede a su vez producir las alteraciones encontradas en las bandas de actividad theta en los animales de 60 días.

SUMMARY

Protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat, produces anatomical alterations in several cerebral structures, some of them are involved in the sleep-wake cycle regulation. Sleep-wake cycle has been assessed in the rat in order to understand some of the functional implications of protein malnutrition. In this study we used chronic (Ma) and prenatal (Rh) malnutrition in rats and their controls (Co) at 30 and 60 days of age, and was analyzed by the electrocorticogram (ECoG) using spectral analysis, as a tool, to separate delta, theta and fast activity bands, as well as, was studied their circadian rhythmicity. All records were made during 24 hr and the ECoG signal was computed every four seconds. Base-line day (30 and 60 days old rats) was followed by 24 hr of REM sleep deprivation, and 3 recovery days were recorded after sleep deprivation. An inverted dark-light cycle was used to create a "conflict experiment" in which the rat must decide between to sleep or start their activity period. Relative power density in 30 days Ma rats, showed significant decreases in recovery day 1 and 2 in the delta band when were compared with Co rats. In comparison with Rh, Ma group showed significant decreases in the theta band at recovery day 2, and its fast activity band was increased significantly at all recorded days. Both Ma and Rh rats at 60 days of age showed significant increases in the relative power density of theta band in all experimental days. This results suggest that chronic malnutrition produces physiological alterations in the vigilance states regulation and also alters the cortical electric activity. On the other hand, it has been suggested that alterations in protein synthesis produces changes on the circadian system regulation. We observed delays and advances in the circadian phases of vigilance states on our experimental animals with protein malnutrition in both 30 and 60 days of age. Diaz-Cintra et al (1994) found anatomical alterations in the hippocampal formation produced by the same malnutrition model, suggesting an anatomical correlate to the effects found in the theta band in our 60 days old malnourished animals.

ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CORTICAL ANTES Y DESPUÉS DE LA PRIVACIÓN SELECTIVA DE SMOR EN RATAS NORMALES Y MALNUTRIDAS.

INTRODUCCIÓN

La malnutrición y la desnutrición en las poblaciones humanas de países subdesarrollados y desarrollados, constituyen un problema de salud. Las condiciones económicas, políticas, y sociales prevaletentes han incrementado su complejidad y hacen difícil su solución.

Una nutrición inadecuada sufrida en la etapa perinatal del desarrollo de los individuos produce alteraciones no solo en el organismo sino también sobre el sistema nervioso central (**SNC**), dónde provocan secuelas a corto y largo plazo, que comprometen su integridad estructural y funcional (Dobbing, 1971, Forbes y cols., 1977b).

En la rata, dado que se conocen los aspectos básicos de su fisiología, se han realizado modelos para estudiar los efectos que produce la malnutrición sobre el **SNC**. Los métodos usados más frecuentemente incluyen: 1) Alimentación de la madre con dietas bajas en proteína, 2) reducción de la cantidad de la dieta, 3) reducción del número de glándulas mamarias para la succión de las crías, 4) aumento del número de crías en la camada, 5) rotación de las crías entre las madres y una incubadora y 6) alimentación artificial de las crías en un ambiente controlado. Los efectos de cada uno de estos procedimientos dependen del tiempo que dure la deficiencia nutricional (Galler y Kanis, 1987).

También, en este organismo, se han llevado al cabo estudios sobre la fisiología de los estados de vigilancia, la ontogenia del sueño, el desarrollo temprano del electrocorticograma (ECoG) y para medir los estados de sueño (Jouvet-Mounier y Astic, 1968, Gramsbergen, 1976a, b, Bronzino y cols. 1980, Alföldi y cols., 1990). Otro aspecto importante en el estudio de la fisiología del sueño, son los mecanismos que intervienen en la regulación de los estados de actividad cerebral en el adulto, para lo que este mamífero ha resultado ideal (Nauta, 1946, Timo-laira y cols. 1970, Steinfels y cols, 1980, Lancel y Kerkhoff, 1989).

De estos estudios se desprende que la conducta de sueño constituye una característica importante de la actividad cerebral, por lo que se le ha empleado como índice de integridad funcional de varios sistemas cerebrales, no solo de los roedores, sino de los mamíferos en general.

Así, el interés de nuestro grupo de investigación incide sobre aquellos efectos que la malnutrición proteínica produce sobre el desarrollo cerebral de la rata. Nuestro modelo, para tratar de comprender las implicaciones funcionales de los efectos orgánicos que produce este tipo de malnutrición sobre el desarrollo cerebral, es el estudio de la electrofisiología del ciclo de sueño y vigilia en ratas de 30 y 60 días de edad sometidas a malnutrición proteínica crónica y prenatal con rehabilitación nutricional posnatal.

ANTECEDENTES

DESARROLLO CEREBRAL.

a) Periodos Críticos de Desarrollo Cerebral

La hipótesis de periodo crítico, propuesta por Dobbing y cols. desde 1968, propone que los procesos de desarrollo del SNC son vulnerables a ser modificados con gran facilidad por estímulos exógenos (por ejemplo todos los factores ecológicos en malnutrición), o endógenos (hormonas). Así, el momento en el cual se llevan al cabo cada uno de los procesos de maduración del SNC ha sido denominado periodo crítico (Dobbing, 1968a, 1970, 1990; Kretchmer, 1989; Smart, 1991) (Fig. 1).

En la etapa prenatal y posnatal tempranas del desarrollo del SNC en los mamíferos ocurren numerosos procesos de maduración como neurogénesis, migración y diferenciación neuronal, la formación y organización de circuitos neuronales, gliogénesis y mielinización. Todos éstos, son necesarios para integrar el sustrato anatómico de los centros funcionales que regulan el sueño, el aprendizaje y en general para el correcto funcionamiento del organismo (Dobbing, 1972, Rodier, 1980). Durante el desarrollo, estos procesos pueden ser afectados por una gran variedad de factores endógenos o ambientales, en los cuales, la naturaleza y la severidad de la perturbación dependen de la sincronización del factor con respecto al estado de desarrollo (Dobbing, 1972, Rodier, 1980, Smart, 1991), afectándose aquellos eventos que ocurren simultáneamente con la perturbación, pero también aquellos que ocurren después de ésta como resultado de una cascada de efectos. Por otra parte, este periodo podría ser un momento oportuno para resaltar el potencial de desarrollo del SNC (Kretchmer, 1989).

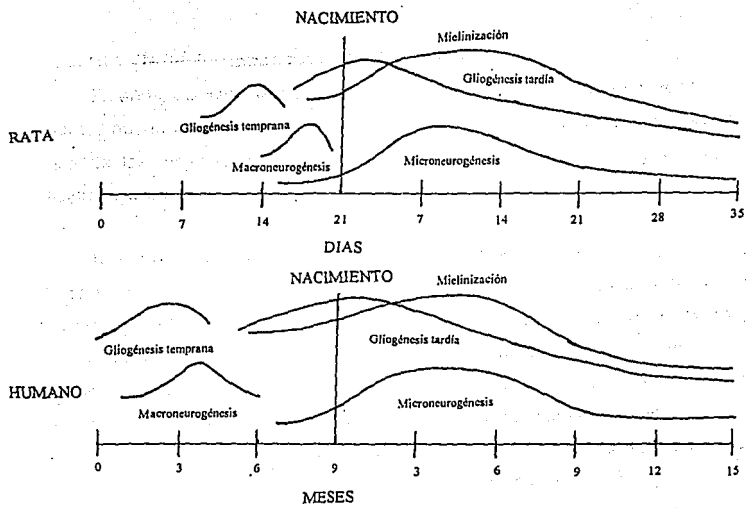


FIG. 1 Esquema que compara los principales eventos de desarrollo en el cerebro de ratas y humanos. Estos eventos nos permiten visualizar los diversos periodos de vulnerabilidad relacionados a estados de malnutrición específicos que pueden ser afectados por daños pre o posnatales (Modificado de Morgane y cols., 1993).

b) La Nutrición inadecuada y el Desarrollo Cerebral.

En años recientes se ha incrementado el interés en estudiar los mecanismos por los que la nutrición puede afectar la función cerebral, ya que ésta representa una de las mayores influencias sobre el desarrollo normal de las funciones fisiológicas del neonato.

Los tres tipos más frecuentes de nutrición inadecuada son: 1) la malnutrición, en la cual la alimentación es insuficiente por estar ausente un nutrimento específico (v.g. proteínas), afectándose su calidad; 2) la desnutrición y subnutrición, que engloban todas las formas de nutrición insuficiente en donde se presenta reducción en calorías, en proteínas, carbohidratos, vitaminas y/o varios elementos traza; y, 3) la sobrenutrición, que indica un exceso en alguno de los nutrimentos. En las dos últimas la cantidad del alimento consumido no es la adecuada para el correcto funcionamiento del organismo.

Se sabe, que todos los nutrimentos contribuyen a la maduración del SNC, sin embargo, el aporte de proteínas suele ser uno de los más importantes para el desarrollo adecuado de las estructuras cerebrales así como sus funciones neurológicas (Stern y cols., 1976). Se ha observado que la malnutrición proteínica instalada durante los periodos de crecimiento rápido cerebral pre y posnatal altera los procesos metabólicos de síntesis de lípidos y proteínas en el cerebro (Stern y cols., 1976, Lathja y cols., 1987, Azzolin y cols., 1991, Yokogoshi y cols., 1992) así como las concentraciones de aminas biogénicas, (Stern y cols., 1974) y síntesis de neurotransmisores de origen peptídico (Venero y cols., 1992).

El nivel de afección depende de: a) el grado de alteración en la nutrición, b) el tipo de ésta, y, c) el momento del desarrollo cerebral en el que se instala (Barrett y Frank, 1987, Bedi, 1988, Kretchmer, 1989, Smart, 1990, Azzolin y cols.,

1991, Morgane y cols., 1992). Se ha sugerido que, durante el desarrollo prenatal, el organismo de la madre amortigua la falta de nutrimentos, por lo que el desarrollo del cerebro está protegido contra la acción de una mala nutrición prenatal, sin embargo, es vulnerable durante el periodo posnatal temprano (Dobbing y Sands, 1979). Actualmente se sabe que no obstante lo anterior, los daños por malnutrición y desnutrición prenatal en el SNC en desarrollo son irreversibles en aquellas regiones cerebrales de formación temprana tanto prenatal como posnatalmente (Forbes y cols., 1977a). Dentro de estas estructuras se encuentran los núcleos del tallo cerebral (rafe y el *Locus coeruleus*) (Morgane y cols., 1978, 1982, Díaz-Cintra y cols., 1981a, b, 1984, Cintra y Díaz-Cintra, 1985), la formación hipocámpica (Paula-Barbosa y cols. 1989, Cintra y cols., 1990, Díaz-Cintra y cols., 1991, Bedi, 1991), y las neocortezas, visual (Díaz-Cintra y cols., 1990) y temporal (Salas y cols., 1974). También se ha observado que aquellas estructuras cerebrales que se desarrollan durante el periodo posnatal temprano, son vulnerables a sufrir alteraciones por la malnutrición (West y Kemper, 1976, Smart y Bedi, 1982). Por ejemplo, la sobrenutrición proteínica conduce a cambios conductuales, de hiperactividad e hiperresponsividad, y, a cambios morfológicos, induciendo un aumento en la densidad de espinas en la corteza cerebral (Brock y Prasad, 1992).

Los estudios de la electrofisiología cortical indican que la malnutrición y la desnutrición conducen a un aumento en la actividad eléctrica de ondas lentas en la corteza cerebral (Salas y Cintra, 1975, Morgane y cols., 1985, Bronzino y cols, 1987). En los registros electrocorticográficos de animales malnutridos se han observado alteraciones tanto en la arquitectura del sueño, su ciclo y fase, como en avances o retrasos en la presentación de los estados de vigilancia (Cintra y cols., 1988, Durán, 1993). Faradji y cols. (1979), han mostrado que 24 hrs. de ayuno conducen tanto a la pérdida de peso corporal, como a alteraciones en

componentes fásicos del SMOR periféricos (movimientos de ojos, vibrisas y lengua) y una disminución del 87% del SMOR y del 49% del sueño de ondas lentas; lo cual sugiere que la falta de alimento conduce a estados de actividad cerebral alterados en el animal adulto normal.

LA FORMACIÓN HIPOCÁMPICA: EL GENERADOR DEL RITMO THETA.

La formación hipocámpica es un área anatómica que une a las regiones neocorticales y aquellas del tallo cerebral. Su localización permite procesar información derivada de las áreas de asociación multimodal incluyendo las cortezas frontal y temporal. Esta información es distribuida a las regiones corticales y subcorticales involucradas en el proceso y la modulación de muchos procesos conductuales. Su característica principal, es la plasticidad neural por lo que ha sido empleada como modelo para entender la respuesta celular a las lesiones neurales, así como las consecuencias en los mecanismos subyacentes a la plasticidad tanto neural como conductual. Se sabe, además, de su participación en los procesos de memoria, en la localización espacial y aprendizaje y en la integración de la información combinada sensorial, motora y límbica (Cohen y Eichenbaum, 1993).

El hipocampo recibe inervación de los núcleos del rafe dorsal y medial (serotoninérgicos) a través de la corteza entorrinal. Esta vía penetra por el *subiculum* y el *presubiculum* para llegar al *stratum lacunosum moleculare* del hipocampo, donde hace contacto con las dendritas apicales de las neuronas piramidales de los campos CA1 y CA3, cruza la fisura hipocámpica en la cresta y se bifurca hacia la lámina dorsal y ventral de la capa molecular donde hace sinapsis con las dendritas apicales de las células granulares del giro dentado, que es el principal receptor de las proyecciones del patrón perforante.

El hipocampo proyecta al diencefalo por dos vías: a) el fornix postcomisural que termina en el hipotálamo, cuerpo mamilar, cerebro medial-rostral y el núcleo talámico anterior; y b) una vía indirecta formada por fibras comisurales que provienen de los campos CA1 y CA3 y el *subiculum* terminando en el área septal a través del núcleo septofimbrial y el núcleo habenular medial y hacia el hipotálamo (Fig. 2).

El circuito trisináptico hipocámpico.

Las células del giro dentado de la formación hipocámpica son el receptor principal de las proyecciones del patrón perforante que provienen de la corteza entorrinal y que constituyen el primer relevo en el circuito trisináptico del hipocampo. El segundo relevo está integrado por las fibras musgosas del giro dentado que hacen sinapsis sobre las dendritas apicales de las células piramidales del CA3, estas neuronas proyectan axones conocidos como fibras colaterales de Schaffer que conectan con el *stratum radiatum* del CA1, donde hacen sinapsis con las dendritas de las neuronas piramidales de este campo, formando de esta manera el tercer relevo sináptico del tri-circuito.

Ritmo Theta.

El ritmo theta del hipocampo es un patrón electrográfico regular de 4-12 Hz, conocido como actividad rítmica lenta (ARL) y generado por las células de la formación hipocámpica. Se cree que la fuente de ritmicidad son las neuronas marcapaso del *septum* medial y el núcleo de la banda diagonal de Broca, ya que estas células mantienen sus patrones rítmicos aún después de varias secciones del área septal o cuando se estudian en preparaciones *in vitro*. La destrucción del

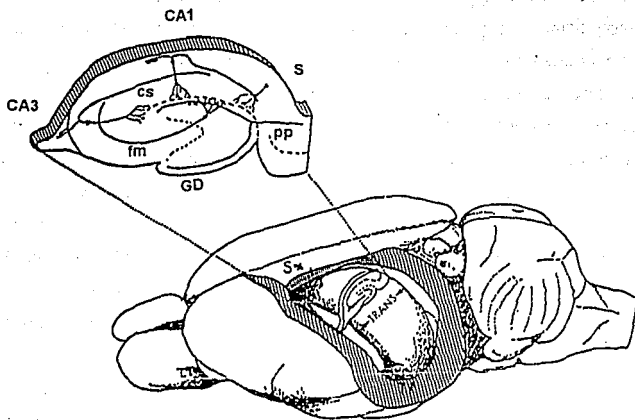


FIG. 2 Se muestra la posición anatómica de la formación hipocámpica en el cerebro de la rata. El esquema superior izquierdo es una representación de los elementos neuronales principales y las conexiones intrínsecas (vgr circuito trisináptico de la formación hipocámpica).

GD= giro dentado, fm= fibras musgosas, pp=patrón perforante, cs= colaterales de Schaffer, CA1=Cornus ammonis 1, CA3= Cornus ammonis 3, S=septum. (Modificado de Amaral y Witter, 1989).

área septal anula la ARL del hipocampo, y quizás también de todas las demás áreas corticales. En el animal anestesiado la ARL también puede ser abolida por inyecciones sistémicas septales de antagonistas colinérgicos, tales como la atropina y la escopolamina. Estos hallazgos en conjunto, permiten suponer que el marcapaso colinérgico septal es alimentado dentro de los circuitos paralelos del hipocampo y excita las neuronas piramidales y quizá las células granulares del giro dentado. Las colaterales recurrentes de estas células piramidales activan a interneuronas inhibitorias, las que a su vez inhiben a las células piramidales de una manera periódica. Este ciclo de excitación-inhibición produce fluctuaciones rítmicas del potencial de membrana en un gran grupo de neuronas y los potenciales de membrana sumados producen el campo extracelular del ritmo theta (Buzsáki, 1986).

Las fluctuaciones de los potenciales rítmicos están relacionadas a la excitabilidad de las células piramidales del hipocampo y algunas células disparan en asociación con los potenciales rítmicos lentos (Ranck, 1973). Se sabe que las células theta son un conjunto de interneuronas dentro del hipocampo localizadas cerca de las capas granulares y piramidales (Fox y Ranck, 1975). Aunque se cree que las fibras aferentes del área septal son las responsables de la ARL normal, parece que llegan a regiones difusas de la formación hipocámpica y se sabe que existen dos zonas que generan la ARL, una en el campo CA1 y la otra en el giro dentado (Winson, 1974, Bland y cols. 1975). Las relaciones de fase de los ritmos eléctricos de los dos generadores dependen del estado de vigilancia del animal. Estos ritmos se encuentran en fase durante el sueño de ondas lentas pero hay inversión de fase durante el SMOR y cuando el animal esta despierto (Buzsáki y cols, 1979). Los generadores parecen estar localizados en áreas de baja densidad celular en la porción externa de la capa molecular del giro dentado y el *stratum oriens* del hipocampo.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA

a) Desarrollo.

La duración de la vida intrauterina así como el grado de inmadurez al nacimiento juegan un papel importante en el desarrollo del ciclo de sueño y vigilia (Jouvet-Mounier y cols. 1970, Cavoy y Delacour, 1981). En los mamíferos que nacen con inmadurez sensorial (altriciales), v.g. rata, conejo, gato, hombre, etc.; el electroencefalograma (EEG) posnatal se caracteriza por la reducción paulatina del sueño con movimientos oculares rápidos (SMOR), y por el incremento del sueño de ondas lentas (SOL) (Alföldi y cols., 1990, Mirmiram y Kok 1991). Durante el periodo posnatal, los mamíferos altriciales maduran los mecanismos responsables de la regulación del ciclo sueño-vigilia (Roffwarg y cols. 1966, Coons, 1987). La rata alcanza la madurez del adulto a los 40 días de edad (Alföldi y cols. 1990), en edades posnatales más tempranas aún muestra desajustes en la presentación de los estados de vigilancia así como mayor cantidad de SMOR, cuya presencia disminuye entre los días posnatales 29 y 40. Por otro lado, en los animales precoces, que nacen con un sistema nervioso relativamente maduro (v.g. cobayo, cordero, caballo, etc.), los aspectos del EEG al nacimiento presentan características muy semejantes a los del adulto de la misma especie, en los diferentes estados de vigilancia (Jouvet-Mounier y cols, 1970).

b) Neurofisiología del Sueño

Integración de la actividad cerebral.

El ciclo de sueño y vigilia es una manifestación básica de la actividad del SNC a la vez que es regulado por diversas estructuras cerebrales. Algunas de estas estructuras se han determinado con base en resultados obtenidos al realizar secciones en diferentes niveles del neuroeje. El método de seccionar para identificar la función de una determinada estructura, fue iniciado a principios de siglo. En los años 30's Bremer, al separar el bulbo raquídeo de la médula espinal (preparación de "encéfalo aislado"), inducía un estado electrocorticográfico de ondas lentas. En otra preparación de transección a nivel de mesencéfalo ("cerebro aislado"), observó que se alternan los patrones de ondas lentas de alto voltaje (sincronización) y ondas rápidas de bajo voltaje (desincronización). Con estos resultados, Bremer propuso que la vigilia se producía y mantenía por una entrada sensorial constante mientras que el sueño aparecía como una falta de estimulación al sistema nervioso (Bremer, 1935). Más tarde Moruzzi y Magoun (1949) mostraron que la estimulación en la formación reticular del tallo cerebral produce un estado de alertamiento y vigilia en animales conductualmente dormidos ("despertar electroencefalográfico"), por tanto se propuso, que el sueño era un fenómeno pasivo, como resultado de la disminución en la actividad de la formación reticular mesencefálica (Horne, 1988).

En la actualidad se ha demostrado la participación de diversas estructuras del tallo cerebral involucradas en las manifestaciones fenomenológicas de los estados de sueño. Así, las lesiones en el hipotálamo anterior (área preóptica y núcleo supraquiasmático) producen un estado de insomnio, lo que permite suponer que ésta es un área promotora del sueño (Nauta, 1946). Todo lo anterior sugiere que el mecanismo que regula el sueño no es un fenómeno pasivo, sino que se induce activamente (McCarley, 1990, Houdouin y cols., 1991, Steriade, 1992).

A la formación reticular pontina, se le han atribuido, entre otras, las siguientes funciones: a) disparar el SMOR, b) controlar el despertar y la atención, c) establecer el nivel del tono muscular, d) coordinar los movimientos del cuello, cabeza y músculos extraoculares, e) activar el proceso de marcha, etc. Asimismo se ha asociado a los núcleos serotoninérgicos del rafe con la generación del SOL; y a las neuronas noradrenérgicas y colinérgicas del *Locus coeruleus*, con la génesis del SMOR, en tanto que el *Locus coeruleus caudalis* ha sido implicado en la atonía muscular (Sakai, 1980, Jones, 1991, Bier y McCarley, 1994). Además de la formación reticular pontina, algunos núcleos del hipotálamo anterior poseen centros de influencia facilitatoria del SOL (Steriade, 1992), en tanto que aquellos del hipotálamo posterior se les ha asociado a la generación y regulación de la vigilia y del SMOR (Sakai y cols., 1990).

Una de las teorías acerca del mecanismo de generación del sueño (Hobson 1983) propone que durante la vigilia las aminas biogénicas (serotonina y noradrenalina) de los núcleos del rafe y el *Locus coeruleus* se encuentran en concentraciones elevadas, en tanto que aquellas de acetilcolina están disminuidas en los núcleos tegmentales latero-dorsales (TLD) y tegmentales pedúnculo pontinos (TPP) del tallo cerebral. Estas concentraciones se invierten cuando el sujeto entra en SMOR una vez que ha pasado por SOL (ver Tabla I). Los núcleos del rafe envían proyecciones inhibitorias sobre algunas neuronas colinérgicas de los núcleos pontinos TLD y TPP, por lo que a estas células se les ha denominado de REM-off. Así, cuando la actividad de los núcleos del rafe disminuye, permite que comiencen a activarse los núcleos pontinos colinérgicos (células REM-on), dando lugar a la generación del SMOR (Hobson y cols., 1975, Baghdoyan, y cols, 1987, Steriade, 1992). Las neuronas colinérgicas del tallo cerebral aumentan su frecuencia de disparo espontánea y su excitabilidad

durante la desincronización cortical, esto es, en los estados de gran actividad cerebral (vigilia y SMOR).

Tabla I
Frecuencia de disparo y excitabilidad neuronal en núcleos que intervienen en la regulación del sueño y la vigilia

Estructura	VIG	SOL	SMOR
N. rafe (5-HT) <i>Locus coeruleus</i> (NA)	↑	↑	---
N. TLD (ACh) N. TPP	↑	---	↑

Nota: La desincronización cortical es generada por la actividad de los núcleos TLD y TPP.

c) Estados de vigilancia en el ciclo de Sueño y Vigilia.

Los tres principales estados de vigilancia (vigilia (VIG), sueño de ondas lentas (SOL) con sincronización del EEG y sueño con movimientos oculares rápidos (SMOR) con desincronización del EEG) pueden ser reconocidos por tres distintivos fisiológicos que incluyen el ritmo electroencefalográfico, el tono muscular y los movimientos oculares asociados con las ondas ponto-geniculo-occipitales (PGO) generadas en los sistemas celulares del tallo cerebral. Los índices electrográficos así como la actividad electrocorticográfica (ECoG) de los estados de vigilancia sirven como indicadores de la organización neuronal, diferenciación y nivel de madurez funcional así como de alteraciones que afectan directamente al SNC.

Vigilia (VIG)

El mecanismo neural que regula la vigilia involucra sistemas interdependientes que actúan a nivel talámico y extratalámico. Los núcleos *Locus coeruleus* (noradrenérgico) y rafe dorsal (serotoninérgico) presentan una frecuencia de disparo máxima durante la vigilia, que disminuye durante el SOL y es mínima en el SMOR (McGinty y Harper, 1976). Como ya se mencionó, estas células REM-off tienen un papel activador en la vigilia, enviando proyecciones hacia tálamo y corteza, que se encargan de mantener desincronizada la actividad cortical, junto con los núcleos TLD y TPP (los cuales también se encuentran activos durante SMOR, la otra etapa de desincronización cortical) (Steriade, 1992). Otros núcleos colinérgicos incluidos en el sistema regulador de la vigilia son el núcleo de Meynert y la sustancia inominada del cerebro basal, cuyas proyecciones tálamo-corticales inducen activación cortical (Sarper y Loewy, 1980). Asimismo, se ha relacionado la frecuencia máxima de disparo de las neuronas colinérgicas del cerebro basal con la desincronización cortical (Szymusiak y McGinty, 1989).

La formación reticular proyecta fibras noradrenérgicas y serotoninérgicas hacia el hipotálamo, subtálamo y cerebro basal, y directamente a la corteza y al hipocampo (Jones y Yang, 1985). El hipotálamo posterior, en tanto, envía fibras histaminérgicas difusas a la corteza y al tálamo. Estas conexiones son consideradas como parte del sistema activador de la vigilia dado que su lesión produce somnolencia continua (Nauta, 1946). En 1972, Jouvet propuso la teoría serotoninérgica del sueño, en la que los núcleos del rafe serían responsables de la generación del sueño lento. Pero, en la actualidad, se ha demostrado que su destrucción produce insomnio y por el contrario, la estimulación de estos núcleos,

da lugar a la vigilia (Houdouin y cols., 1991). Estos hallazgos sugieren entonces que esta estructura favorece el sueño al inhibir el estado de vigilia (Vertes, 1990).

Sueño de ondas lentas (SOL)

Steriade y cols., (1987) han demostrado que durante el SOL hay disminución de la actividad neuronal en la corteza y en el tálamo. Las neuronas del rafe también disminuyen su frecuencia de disparo al inicio del SOL, desapareciendo durante el SMOR (McGinty y Harper, 1976). En contraste, los núcleos del tracto solitario, talámicos inespecíficos y los de la región preóptica-hipotalámica anterior y del cerebro basal anterior, se activan durante el SOL. Asimismo, las neuronas GABAérgicas de la corteza y el hipocampo se activan durante el SOL (Steriade y Hobson, 1976). La instalación y el mantenimiento del SOL parecen estar controlados por la activación de los núcleos del rafe *dorsalis* y *centralis* (los cuales, al ser lesionados producen insomnio). Dicha activación inhibe el efecto del despertar del sistema reticular, permitiendo al tálamo medial inducir los husos de sueño y la sincronización cortical (Jouvet, 1988). Por otra parte, a los núcleos del rafe *pontis* y *magnus* se les ha relacionado con la instalación del SMOR. Se ha localizado un proceso hipnagógico dentro del cerebro basal anterior en las proximidades del núcleo del tracto solitario, en dónde la estimulación eléctrica produce sincronización del EEG asociado a la conducta de sueño (Magni y cols., 1961).

Durante el SOL, las neuronas de la sustancia innominada y del globo pálido, aumentan su frecuencia de disparo. Nauta (1946), mostró que las lesiones de la región anterior del hipotálamo produce insomnio, en tanto que la estimulación eléctrica sobre el hipotálamo *lateral*, el núcleo anteroventral del tálamo, y el área

preóptica produce sincronización cortical y conducta de sueño (Steriade y cols., 1987). Las áreas preóptica media, banda diagonal de Broca (DBB), la preóptica lateral magnocelular (LPO) y la sustancia innominada subpalida constituyen una región compleja que contiene vías y elementos neuronales en donde se integran procesos hormonales, metabólicos y conductuales. Estas áreas que ejercen su control sobre el mantenimiento y consolidación del SOL, al ser lesionadas producen hiposomnía, pérdida del SOL profundo, disminución de la frecuencia de aparición del SOL y del SMOR, en tanto que se aumenta la duración de la VIG, (Szymusiak y McGinty, 1989).

Sueño con Movimientos Oculares Rápidos (SMOR)

Se ha propuesto que el SMOR es el resultado de la activación de sustratos neuronales localizados en el tallo cerebral (Jouvet, 1972). En la preparación de cerebro aislado se mantienen la atonía muscular, los movimientos oculares rápidos, las ondas PGO y las sacudidas musculares. Al realizar el transecto a nivel de la protuberancia se pierden los componentes fásicos y tónicos del SMOR (Jouvet, 1988). Además de estos fenómenos, el registro del SMOR se caracteriza por la desincronización de la actividad cortical y la aparición del ritmo theta hipocámpico (Faradji, 1979). En 1985, Sakai propuso que algunas estructuras del tallo cerebral están vinculadas con los eventos fásicos y tónicos del SMOR. También, se ha sugerido que las espigas PGO se originan en el área X del tegmento pontino dorsal (núcleo colinérgico mesopontino) (Sakai, 1985), así como en las neuronas TLD y TPP de la formación reticular pontina, debido a que lesiones en dichas neuronas anulan su aparición (McCarley y cols., 1978, Jones, 1991). Las espigas PGO, se propagan desde la región pontina al cuerpo

geniculado lateral y a la corteza occipital, donde se reconocen con facilidad (Sakai, 1980, Jones, 1991).

En 1975, McCarley y Hobson propusieron un modelo de regulación del SMOR. Dicho modelo se basa en el curso temporal de la actividad de descarga de dos poblaciones neuronales: 1) neuronas REM-On en la formación reticular pontina que se activan durante el SMOR, y 2) neuronas REM-off en el *Locus coeruleus* (LC) y núcleo rafe dorsal (RD) donde la activación se alterna con un curso temporal recíproco a las células REM-On. Las células LC/RD detienen la actividad de descarga conforme se aproxima un periodo de SMOR y parecen tener un papel desinhibitorio en el control del mismo. Así, estos autores proponen que la ocurrencia periódica del SMOR puede ser producido por la interacción recíproca entre estos dos grupos de neuronas.

La regulación del SMOR implica la activación de los mecanismos colinérgicos/colinoceptivos de varias regiones de la formación reticular pontina. Dentro de éstas se incluyen el área reticular tegmental dorsal, las áreas reticulares laterales y porciones de la médula y la formación reticular mesencefálica (McCarley, 1990). La desincronización cortical implica un alto grado de actividad de las neuronas centrales y de los sistemas motores, sin embargo, el SMOR (un estado de desincronización cortical), presenta paradójicamente atonía muscular acoplada a gran actividad neuronal (Steriade y McCarley, 1990). Se sugiere que esta atonía de los músculos antigravitatorios es causada por una hiperpolarización de las motoneuronas de la médula espinal (Morales y Chase 1978), así como a una inhibición de la actividad tálamo-cortical (Llínas y Paré, 1991). Las lesiones provocadas sobre el *Locus coeruleus* medial y regiones adyacentes de la formación reticular pontina anulan la atonía muscular (Morrison, 1983), dañando el origen o curso de las neuronas que contribuyen a la

vía tegmentoreticular descrita por Sakai y cols. (1979) como un mediador de la atonía presente durante el SMOR. En este estado, las frecuencias de disparo de las neuronas colinérgicas del tallo cerebral (núcleos TLD y TPP), así como tálamo-corticales se encuentran muy elevadas. Los núcleos del rafe (con las denominadas células REM-off) envían proyecciones inhibitorias a los núcleos colinérgicos pontinos TLD y TPP, impidiendo que el organismo entre a la fase de SMOR, pero cuando los núcleos del rafe dejan de disparar, se pierde la inhibición y esto permite que se activen los núcleos colinérgicos dando lugar a la generación de SMOR (Shiromani y cols, 1992). Los sistemas colinérgicos del tallo cerebral producen dos efectos principales sobre el tálamo: a) una excitación directa de las células tálamo-corticales y b) una desinhibición de las neuronas tálamo-corticales, producida por la inhibición de neuronas GABAérgicas reticulotálámicas, y se sugiere que estos sistemas inducen la activación cortical durante el SMOR (Curró Dossi y cols., 1991).

d) Regulación del Sueño.

A pesar de que el sueño es un fenómeno común en los vertebrados superiores, poco se conoce acerca de sus implicaciones fisiológicas. Con base a datos obtenidos en varios mamíferos homeotermos se ha observado que éstos exhiben dos fases de sueño: SOL y SMOR. La cantidad de SOL en los mamíferos es inversamente proporcional al peso corporal, lo cual sugiere que gran cantidad de esta fase de sueño es una desventaja en muchas especies cuyo metabolismo es alto. Para tratar de comprender este proceso fisiológico se han propuesto diversas funciones. Algunos autores sostienen que se duerme para descansar en tanto que otros más proponen que su función es reponer no sólo fuerzas, sino también sustancias químicas que se consumen a lo largo del día (Drucker-Colín, 1981, Prospéro y cols., 1990), o para optimar los procesos de aprendizaje y memoria (Ambrosini y cols, 1992, Crick y Mitchinson, 1983). Una teoría más

actual supone que el estado natural de los homeotermos es dormir (Horne, 1988), y para mantener la oscilación entre la vigilia y el sueño se requiere la presencia de un reloj biológico que regule este ciclo, y en los mamíferos se ha propuesto al núcleo supraquiasmático (Moore, 1990).

Privación de Sueño.

La privación de sueño (**PS**) es una estrategia experimental empleada para explorar los mecanismos de la regulación del sueño y su ritmicidad circádica. Se han desarrollado diversas técnicas tanto mecánicas como farmacológicas para lograr una privación de sueño total o selectiva. Entre las técnicas mecánicas se encuentran el cilindro rotatorio para la privación total de sueño, el péndulo, la plataforma rodeada de agua, la manipulación suave, descargas eléctricas, la calesita, estimulación de la formación reticular, por nombrar algunas. Farmacológicamente se han desarrollado técnicas donde se realiza la administración sistémica de agonistas de la síntesis de noradrenalina, serotonina, o histamina, bloqueadores de la recaptura de monoaminas como la clomipramina, agonistas y antagonistas de los receptores adrenérgicos alfa y beta, agonistas o antagonistas de la acetilcolina, como el carbacol y la atropina. Con respecto a los estudios de privación de sueño, éstos han generado indicios interesantes de los mecanismos de la regulación del sueño, así Borbély y cols. (1978,1979,1983) proponen que la actividad de las ondas lentas (**delta**) durante el ciclo de reposo y actividad representa un proceso homeostático del sueño, cuya función pudiera ser la recuperación de este último.

La técnica de la plataforma rodeada de agua se ha empleado extensamente para la privación selectiva de SMOR tanto a ratas como otras especies animales. El sujeto es colocado sobre una plataforma, frecuentemente una maceta invertida.

La idea en la cual se basa este método es que la plataforma debiera ser bastante grande para soportar al animal durante el SOL pero no durante el SMOR cuando la relajación muscular es considerable (Marti-Nicolovius y cols., 1984, Grahnedt y Ursin, 1985, van Lujtelaar y Coenen, 1986, Sternthl y Webb, 1986).

Los Ritmos Circadianos y el Núcleo Supraquiasmático (NSQ).

A los fenómenos biológicos cíclicos se les ha denominado ritmos biológicos, por ejemplo, el sueño, la temperatura corporal, la reproducción, la secreción de hormonas, entre otros (Rapp,1987). En 1959, Halberg propuso el término circadiano (circa: cerca, diem: día) para aludir a un ritmo con un periodo de oscilación cercano a 24 horas. Los ritmos circadianos están sincronizados diariamente por la rotación de la Tierra, pero en condiciones de oscilación libre, es decir, en ausencia de sincronizadores como luz-oscuridad, alimentación, temperatura, etc. se exhiben ritmos con periodos no lejanos a las 24 h (Stupfel y Pavely, 1990). La secuencia compuesta por las variaciones de luz y oscuridad ha determinado a lo largo de la evolución patrones morfológicos, fisiológicos y conductuales característicos en cada especie (Rusak y Zucker, 1979). Se pensó que los organismos respondían a estos cambios de manera pasiva, pero actualmente se sabe que cuando se aísla un organismo de todos los factores ambientales que disparan esta cadencia cíclica, continúa con un ritmo propio, semejante al originado por los factores externos. Se acepta entonces que los seres vivos han desarrollado una serie de funciones que siguen oscilaciones periódicas y que les sirven como relojes internos (Skiner y García Rill, 1990).

Los ritmos biológicos persisten tras la exclusión de los factores exógenos (luz, temperatura, humedad, meteorología, presión barométrica, condiciones ecológicas, disponibilidad de alimentos, etc.) siendo efectuados por procesos

internos (osciladores endógenos), que se valen de los primeros para sincronizarse en ciclos determinados (Borbély y cols, 1983). Así, en mamíferos bifásicos como el humano, el sueño y la vigilia constituyen dos etapas de una variación rítmica que ocurre en relación con el día y la noche en periodos de 24 horas.

El núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo ha sido propuesto como el marcapaso circadiano en el cerebro de mamíferos ya que presenta las siguientes propiedades funcionales: a) al destruirse se anulan varios ritmos circádicos: b) la generación de una periodicidad circadiana autónoma, y c) la sincronización de los ritmos de diversas funciones con la alternancia de luz y oscuridad (Ibuka y Kawamura, 1975, Moore, 1992). Se localiza en el hipotálamo anterior sobre el quiasma óptico y lateral al tercer ventrículo, recibe una vía neural directa desde la retina, el tracto retino-hipotalámico y proyecta fibras hacia los núcleos hipotalámicos paraventriculares, jugando un papel importante en la regulación del ciclo sueño-vigilia (Rusak y Zucker, 1979; Moore, 1992). Asimismo, recibe fibras provenientes del complejo nuclear del rafe, lo que afirma su participación en la regulación del sueño. En la rata, su generación es pre y posnatal, es decir, que comienza su generación en el último tercio de la gestación y se extiende hasta los 30 días de edad posnatal (Moore, 1991) (Fig. 3).

El modelo de doble proceso para la regulación del sueño.

Los modelos de privación de sueño total o selectiva, ya sean farmacológicos o mecánicos, se emplean con éxito para estudiar por una parte los factores homeostáticos que regulan el ciclo de sueño y vigilia y por otra los circádicos. Ambos, homeostáticos y circádicos, guardan independencia entre sí (Trachsel y cols., 1986, 1991). La propensión al sueño esta determinada por la interacción de

EVENTOS DE DESARROLLO

NSQ

FORMACIÓN NEURONAL

FORMACIÓN GLIAL

TAMAÑO DEL NSQ

SINAPTOGÉNESIS

VIAS DE ENTRADA

RETINOHIPOTALÁMICA

GENICULOHIPOTALÁMICA

VIAS EFERENTES

NEURONAS VP-VIP

FUNCIÓN

METABOLISMO

TASA DE DISPARO

SISTEMAS EFECTORES

NAT PINEAL

ACTIVIDAD MOTORA

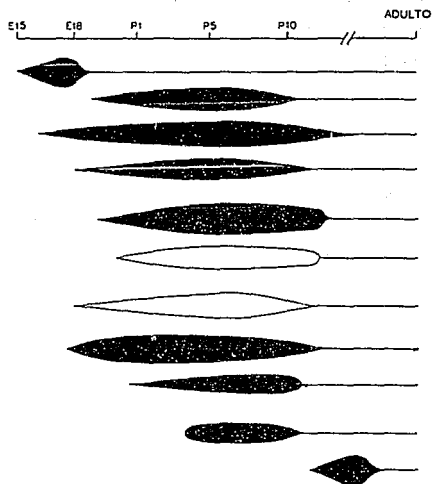


FIG. 3 Esquema que muestra los eventos de desarrollo embrionario (E15) y posnatal (P1-Adulto) del Núcleo Supraquiasmático del hipotálamo en la rata (Modificado de Moore, 1991).

ambos procesos, homeostático y circádico (modelo de doble proceso para la regulación del sueño). En el primero, se coordinan los procesos fisiológicos que mantienen el ciclo de sueño y vigilia estable y en el segundo se regula la ritmicidad del ciclo en una duración aproximada de 24 horas (Borbély y col., 1978, 1987, Franken y cols., 1991). Al mismo tiempo, el SOL es considerado como un proceso homeostático en la regulación del sueño, ya que se observa un incremento compensatorio de éste después de una privación. La pérdida de sueño puede ser compensada tanto en la duración como en la intensidad del sueño. Asimismo, el ritmo circadiano de sueño y vigilia es un proceso disparado por un oscilador endógeno estable.

La presencia de los ritmos circadianos no es un pre-requisito para la homeostasis del sueño dado que si se lesionan los núcleos supraquiasmáticos se pierde la distribución circádica del sueño pero no su cantidad. Sin embargo, la interacción de los mecanismos homeostáticos y circádicos en los animales no se ha investigado de un modo extenso. Una aproximación ocurre en aquellos estudios de los aspectos de la homeostasis del sueño formalizados en el modelo de doble proceso (Borbély, 1987) (Fig. 4).

Los experimentos "conflicto", en los cuales se hace coincidir el término de 24 horas de privación de sueño (PS) con el inicio de la fase de actividad, permiten evidenciar el papel que desempeñan los factores circádicos en la regulación del sueño. El "conflicto" se crea por el incremento de la propensión del sueño causado por 24 horas de vigilia y la tendencia para la vigilia y la actividad como una consecuencia de los ritmos circadianos y la condición luminosa (luz en los animales diurnos y oscuridad en los nocturnos). Bajo estas condiciones el rebote de sueño ocurre en las primeras horas después de la PS. El ciclo diario de sueño y vigilia es un proceso de autorregulación regulado por un oscilador circadiano

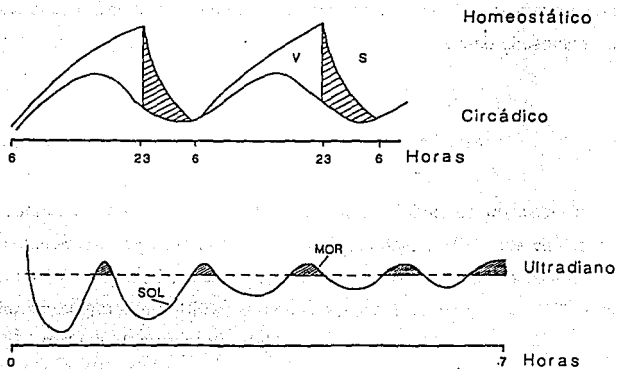


FIG. 4 Se ilustran los tres procesos que regulan el ciclo de sueño y vigilia: Homeostático, Circádico y Ultradiano. V= vigilia, S= sueño de ondas lentas, MOR= sueño de movimientos oculares rápidos (Modificado de Borbély y cols. 1978, 1987 y 1989).

endógeno (el NSQ). El sueño y la vigilia continúan mostrando su ritmo circadiano normal aún después de la privación de sueño. Además, el rebote del SOL en estas condiciones indica que la respuesta compensatoria rápida a una reducción de sueño se dificulta si la recuperación de éste coincide con la fase circadiana de vigilia.

CARACTERÍSTICAS POLIGRÁFICAS DEL SUEÑO EN LA RATA.

De acuerdo a los estudios realizados en ratas adultas, en un ciclo de 24 horas, la cantidad total de sueño es de aproximadamente el 50%, los cuales se distribuyen en un 40% de SOL y un 10% de SMOR. Considerando únicamente el tiempo total de sueño como 100%, el porcentaje de SOL ocupa un 80% y el SMOR el 20% restante (Cintra y cols. 1988).

La actividad eléctrica de la corteza cerebral permite caracterizar los estados de vigilancia. En la rata el ciclo de sueño-vigilia es polifásico, con la mayor cantidad de sueño durante la fase luminosa o de reposo. La vigilia alerta se caracteriza en el ECoG por una actividad de frecuencia variable en un rango de 11.5-30 Hz, con un voltaje medio que varía de 30 a 50 μV o más. La vigilia quieta es un ritmo rápido y de bajo voltaje, y conductualmente se describe cuando el animal se encuentra despierto mostrando una gran diversidad de conductas y actividad. El SOL está caracterizado por husos de sueño de 10 a 13 cps, asociados a actividad lenta (0.25-3.5 Hz) de alto voltaje (ritmo delta) hasta 100 y 200 μV . En la rata y cualquier otra especie de mamífero, las características poligráficas, más sobresalientes del SOL son: ausencia de movimientos corporales, ojos cerrados y, en algunos casos, la adopción de alguna postura especial. Así por ejemplo, el hombre adopta una postura horizontal variable, en cambio la rata se mantiene siempre sobre su vientre y sus 4 patas flexionadas, y

con la cabeza inclinada sobre el tórax. El registro del electromiograma (EMG) revela disminución del tono muscular durante el SOL. Además, se reducen la frecuencia cardíaca, la presión arterial y la temperatura corporal. La respiración se vuelve más lenta y se regulariza, tal vez debido a la reducción de intercambio gaseoso en los tejidos en reposo y a la disminución de la excitabilidad de los centros nerviosos respiratorios para el CO₂. El SMOR es una fase ECoG que se caracteriza por el ritmo theta (4.0-11 Hz), el cual es uniforme y cuyo voltaje varía entre 50 y 150 μ V, puede ser registrado tanto en corteza como en la formación hipocámpica (Borbély y cols, 1984, Bronzino y cols, 1987). La duración de cada episodio de SMOR en la rata es muy variable, de 1 a 5 minutos o más. El inicio de un episodio de SMOR está marcado por la pérdida total del tono de los músculos antigravitorios, principalmente los del cuello, además de la presencia de movimientos oculares y de la actividad rápida en el ECoG (Fig. 5). La pérdida total del tono muscular hace imposible la aparición de esta fase de sueño en otra posición que no sea la horizontal. El final del episodio esta delimitado por la recuperación súbita del tono muscular, ya sea para pasar a la VIG o regresar al SOL. La atonía de los músculos antigravitorios coexiste con activaciones fásicas del resto de la musculatura, que se manifiestan en forma de sacudidas bruscas y repentinas, movimientos de bigotes, orejas y cola o movimientos mioclónicos. Los movimientos oculares rápidos inicialmente descritos por Aserinsky y Kleitman (1955) constituyen la manifestación fásica característica del SMOR, y aparecen en forma de ráfagas aunque también pueden presentarse movimientos aislados. La frecuencia cardíaca se vuelve irregular y con tendencia a aumentar al inicio y fin del episodio, la presión arterial también se vuelve irregular alcanzando los niveles registrados en VIG y descendiendo a los mínimos.

ANÁLISIS ESPECTRAL

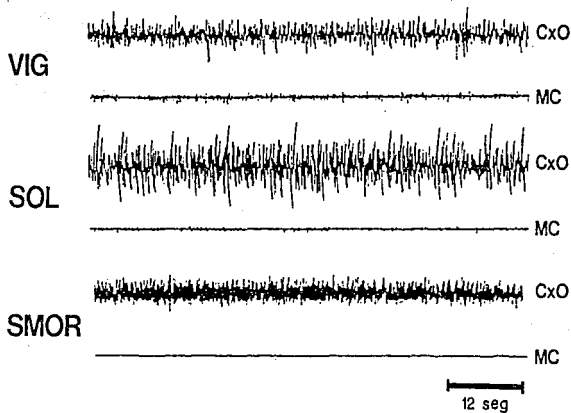


FIG. 5 Registros electroencefalográficos (CxO) y electromiográficos (MC) de VIG, SOL y SMOR en la rata, de la corteza occipital izquierda y de los músculos dorsales del cuello.

Los estados de VIG, SOL y SMOR pueden ser identificados por inspección visual con base a tres indicadores: la amplitud del voltaje del ECoG, la frecuencia de los movimientos oculares rápidos y el registro EMG de la actividad de los músculos antigravitatorios, las espigas PGO son otro indicador importante, así como la presencia del ritmo theta hipocámpico que se utiliza comúnmente como un indicador de SMOR.

Actualmente se han desarrollado técnicas digitales para el análisis de las señales bioeléctricas, las cuales permiten obtener los espectros de amplitudes, fases y frecuencias. Una de las técnicas más utilizadas es el análisis de la actividad eléctrica cerebral empleando la Transformada Rápida de Fourier (TRF), que permite separar una señal EEG o ECoG en sus componentes de frecuencia (Fig. 5). La TRF toma en consideración que la actividad cerebral es un patrón irregular de señales eléctricas que varían en una escala continua, sin separar el comportamiento en estados discretos, lo cual supone importantes ventajas durante los registros continuos de la actividad eléctrica cerebral (Grasing y Szeto, 1992). El análisis de Fourier (con el cual se obtiene la potencia espectral) es un parámetro más sensible que la lectura convencional de los estados de vigilancia ya que realiza la separación de cada uno de los componentes de frecuencia que forman parte de la señal ECoG (algoritmo que no requiere la evaluación de los estados de vigilancia) (Schandry, 1991). Es importante hacer notar que cada uno de los estados de vigilancia presenta una suma de frecuencias tanto lentas como rápidas, y puede diferenciarse de los otros por las bandas de frecuencias características de cada estado. Así, la vigilia presenta mayor cantidad de frecuencias rápidas que de los componentes lentos; el SOL se diferencia de los otros estados de vigilancia porque en éste predominan las frecuencias lentas y en

SMOR predominan las frecuencias entre 4-12 Hz, de la denominada banda theta (Fig. 6).

ESTUDIOS SOBRE MALNUTRICIÓN PROTEÍCA Y ALTERACIONES EN EL SUEÑO.

Desde 1979 a la fecha Cintra y cols., han realizado una serie de experimentos en los que se han empleado modelos de malnutrición donde se reduce la cantidad de proteína (caseína) en la dieta del animal, modelo que se ha empleado con éxito en la Worcester Foundation for Experimental Biology, EUA, en donde originalmente se utilizó una malnutrición moderada con 8% de caseína, durante los periodos pre y posnatal, con el objeto de replicar experimentalmente el síndrome de Marasmo y el de Kwashiorkor, empleando las dietas de 8% y 6%, sin embargo el modelo no replica estos síndromes, pero si ha ayudado a interpretar algunos aspectos de ellos sobre todo en los procesos de maduración del sistema nervioso central por la falta de proteína (nutrimento de gran importancia en la dieta del neonato) y sobre todo ayuda a valorar el daño que produce el modelo 6/6 (malnutrición crónica); otro aspecto importante es saber si pueden ser revertidos o amortiguados algunos de estos efectos al rehabilitar al neonato con nutrición adecuada en el periodo posnatal, modelo 6/25 con malnutrición prenatal solamente.

A partir de 1979, este grupo ha estudiado electrofisiológicamente el ciclo de sueño y vigilia como un índice de integridad funcional del sistema nervioso, para lo cual ha empleado modelos de privación de sueño en dos de sus modalidades, la privación total de sueño mediante el cilindro rotatorio y la privación selectiva de SMOR por la plataforma rodeada de agua (esta última fue utilizada también en el presente proyecto). Se sabe que las técnicas de privación de sueño tanto total como selectivo, vgr de SMOR constituyen una poderosa herramienta para poder estudiar algunos de los complicados procesos del ciclo del sueño y la vigilia por

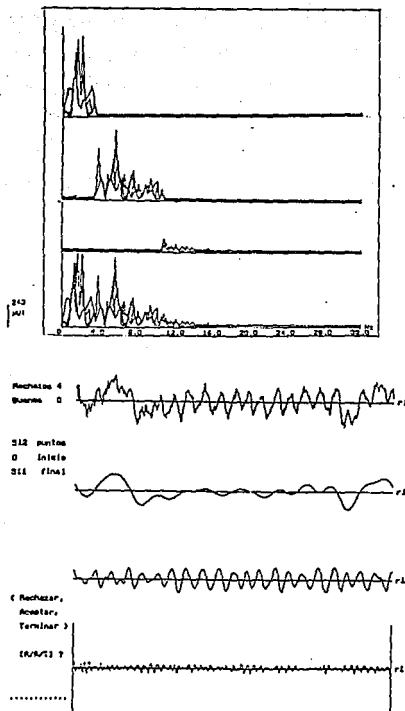


FIG. 6 Análisis espectral del electrocorticograma de la rata: a) Espectros de frecuencia y b) Descomposición de la señal original (r1), ambos en las diferentes bandas de frecuencia: delta (0.75-4 Hz), theta (4-12 Hz) y actividad rápida (12-25 Hz), obtenidos en nuestro grupo.

ejemplo, el llamado rebote de sueño tanto de SMOR como de SOL. Tomando como base los conocimientos generados por los experimentos de privación de sueño por horas o bien días, han surgido modelos como el propuesto por Borbély (Borbély y cols., 1983) del doble proceso (S y C) en el cual la falta del SOL durante la actividad induce en la rata y en el hombre, la propensión al sueño lento, lo que se ha considerado representa el componente homeostático del sueño y el que a su vez esta regulado por una serie de estructuras localizadas tanto en el tallo cerebral como en otras áreas del SNC; y por otra parte, se encuentra el componente circádico para el SOL y para el SMOR ultradiano, los cuales se controlan en el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo (Moore, 1990).

En dos estudios recientes se analizó el ciclo de sueño y vigilia mediante dos modelos de privación de sueño, uno con privación total y otro con privación selectiva de SMOR. Para ambos estudios se emplearon 2 grupos de ratas de la cepa Sprague-Dawley: a) normales alimentadas con dieta de 25% de caseína, como fuente principal de proteína, y b) malnutridas crónicas con 6% de caseína. En el experimento con privación total de sueño, se obtuvieron registros electrocorticográficos y electromiográficos de los estados de vigilancia en ratas machos de 30 y 60 días de edad posnatal, durante un día basal y tres días consecutivos de recuperación posteriores a 24 horas de privación total de sueño por la técnica del cilindro rotatorio. Los resultados de este estudio mostraron que los animales malnutridos de ambas edades durante el día basal presentaron mayor cantidad de SOL, a expensas de la vigilia, así como un aumento en la cantidad de SMOR durante la fase de actividad en comparación con los controles. Después de la privación de sueño la respuesta fisiológica de "rebote" en los malnutridos se presentó alterada, principalmente a los 30 días de edad. El "rebote" compensatorio de SMOR se observó disminuido en el grupo de animales

malnutridos, así como las principales diferencias estadísticamente significativas se presentaron durante la fase de reposo. En un segundo experimento donde se escogió emplear la privación selectiva de SMOR, ya que se supone que ambos tipos de sueño, de ondas lentas y con movimientos oculares rápidos se regulan por mecanismos independientes; se sabe además que las concentraciones de neurotransmisores cerebrales (serotonina, acetilcolina, GABA, etc.) en los malnutridos se encuentran alteradas, así como el daño en el sustrato anatómico producido por este modelo de malnutrición. Los grupos experimentales se mantuvieron desde su gestación en un ciclo de luz invertido con la finalidad de estudiar su ciclo de sueño y vigilia ante una situación de "experimento conflicto", que consiste en privar de SMOR al animal durante 24 horas, de tal manera que se enfrenta ante "el conflicto" de dormir de acuerdo al factor homeostático y de mantenerse activo según el factor circádico. Si decide descansar, generalmente se presenta un pico de sueño y después el animal despierta, respuesta que difiere según el tipo de privación de sueño, la especie, etc. dado que hay muy poca información sobre privación de SMOR y experimento "conflicto" en la rata, decidimos llevar a cabo uno para poder valorar el daño producido por la malnutrición en este tipo de respuesta. En dicho estudio se registraron un día basal a los 30 días de edad, 24 hr de privación de SMOR y 72 hrs consecutivas de recuperación, y se examinaron de manera visual los registros para su análisis por fases de actividad y reposo de 12 horas y durante las 24 horas así como su distribución circádica por bloques de 4 horas, tomando en consideración los estados de vigilancia: VIG, SOL y SMOR. Los resultados de dicho estudio mostraron que la malnutrición crónica (pro y posnatal) produce alteraciones significativas en los estados de vigilancia representadas por el incremento del SOL y del SMOR y la disminución de la vigilia, lo cual da una configuración diferente a la arquitectura del ciclo sueño y vigilia (Fig.7). En cuanto a la distribución circádica también se observó que varía en los animales malnutridos

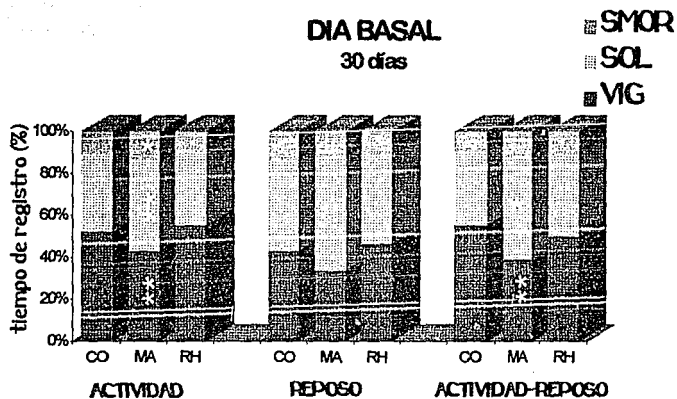


FIG. 7 Gráfica en donde se muestra la arquitectura dada por el % del tiempo de registro, del ciclo sueño-vigilia en la rata en tres condiciones experimentales control (CO), malnutrido (MA) y rehabilitado al nacimiento (RH); a los 30 días de edad (n=6 en cada grupo). Nótese la reducción significativa de la VIG en los animales malnutridos y el aumento en SOL y SMOR durante la fase de actividad.

respecto a los controles, principalmente en los 3 días de recuperación. Con base a estos resultados se sugirió que la malnutrición parecía alterar la manifestación fisiológica y circádica de los estados de vigilancia, llegando a la conclusión, con ambos experimentos, con privación total y selectiva de sueño, de que la malnutrición pre y posnatal produce un retraso en la maduración de los sistemas que regulan los estados de vigilancia. En otro estudio, empleando animales malnutridos prenatalmente (con la dieta de 6% de caseína) y rehabilitados al nacimiento (con la dieta de 25% de caseína), los estados de vigilancia no se presentaron alterados en los análisis de fases y durante las 24 h a los 30 días de edad (ver Fig. 7). En ambos estudios se analizaron los efectos de la malnutrición en edades de 30 y 60 días de edad, la razón de emplear estas dos edades se debe a que la rata a los 30 días aún no completa la maduración cerebral de la señal bioeléctrica del electrocorticograma (ECoG) (Alföldi y cols, 1990), lo cual nos permite valorar las alteraciones que produce la malnutrición proteínica en los estados de vigilancia (VIG, SOL y SMOR) así como en las bandas de frecuencia del ECoG empleando el análisis de Fourier. A los 60 días en cambio, la rata ya se encuentra madura, al menos en cuanto al desarrollo del SNC y nos permite estudiar el daño producido por la malnutrición a mediano plazo. Por otra parte, al compararse las curvas de peso corporal hasta los 60 días posnatales de los tres grupos 25/25, 6/6 y 6/25 (controles, malnutridos crónicos y, malnutridos prenatalmente y rehabilitados al nacimiento, respectivamente); el grupo 6/6 presenta diferencias estadísticamente significativas desde el nacimiento, en tanto que el grupo 6/25 recupera el peso corporal, sin mostrar diferencias significativas después de dos semanas posnatales, y a lo largo del desarrollo del individuo (Fig. 9).

Estudios morfológicos previos han reportado que la malnutrición crónica ligera (8% de caseína), produce reducciones tanto en el tamaño y el peso

PESO CORPORAL

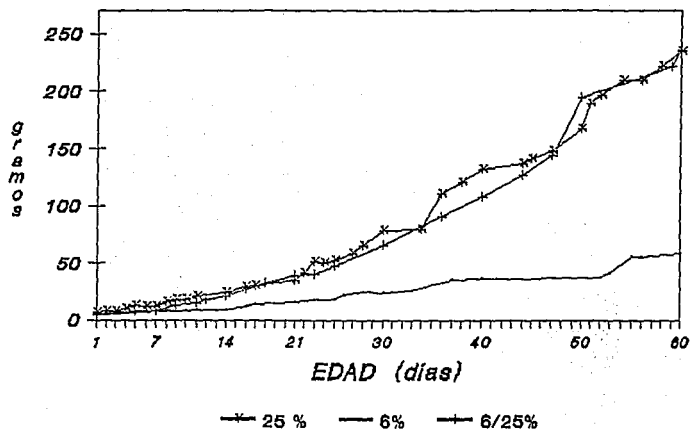


FIG. 8 Registro del peso corporal de las ratas que formaron los grupos control (25%), malnutrido (6%) y rehabilitado al nacimiento (6%/25%).

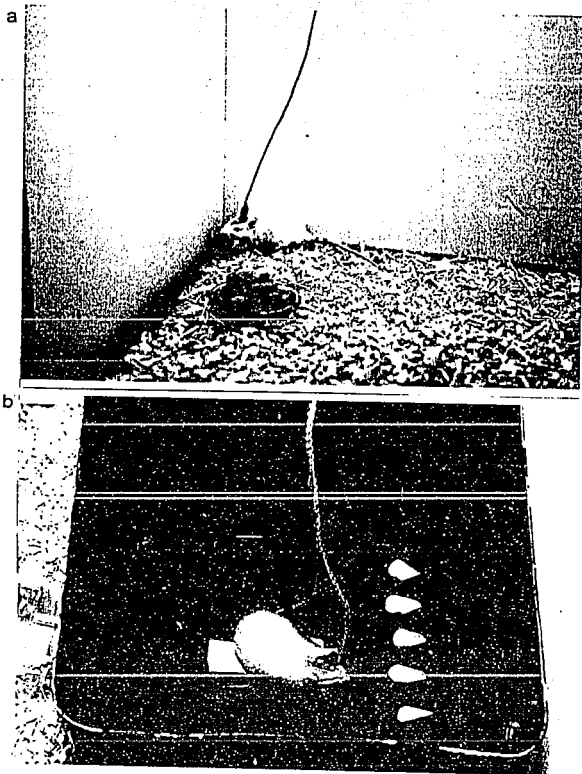


FIG. 9 Muestra las condiciones de registro: a) en la cámara sonoamortiguada con agua y alimento *ad libitum* y b) el dispositivo para la privación selectiva de SMOR, por la técnica de la plataforma rodeada de agua.

cerebrales (Cintra y cols, 1990) como en el tamaño celular de los núcleos del rafe dorsal (Díaz-Cintra y cols. 1981b). Además, en los animales de 30 días de edad, produce una disminución en el número de espinas dendríticas tanto en los núcleos del rafe dorsal, como en el *Locus coeruleus*, sin embargo se encuentran incrementos en la densidad dendrítica de estos mismos núcleos en animales malnutridos de 90 y 220 días de edad (Díaz-Cintra y cols. 1981b, 1984) al mismo tiempo se ha sugerido que este incremento en la densidad dendrítica pudiera deberse a un mecanismo de adaptación, que le permite al animal malnutrido incrementar la actividad sináptica de estos núcleos.

En otro estudio Cintra y cols. (1990), observaron que la malnutrición crónica ligera (8%) produce reducciones en los ejes mayor y menor del soma, así como del número de ramificaciones y espinas dendríticas sobre las células granulares del giro dentado del hipocampo en animales de 30, 90 y 220 días de edad. Posteriormente Díaz-Cintra y cols. (1991) reportaron que la privación proteínica prenatal del 6% de caseína sobre éstas mismas células produce efectos similares a los reportados en la malnutrición crónica. Estos resultados morfométricos demuestran que la malnutrición proteínica prenatal produce daños a nivel celular, que no pueden ser revertidos por una subsecuente rehabilitación nutricional posnatal. Recientemente, Cintra y cols. (1994) reportaron que la malnutrición proteínica crónica produce reducciones intensas a largo plazo en el tamaño celular de las células fusiformes, multipolares y ovoides del NSQ, por lo que han sugerido que estas alteraciones puedan ser el sustrato morfológico de las modificaciones en el comportamiento circádico y la regulación del sueño observadas en los animales malnutridos. En un estudio reciente (Granados, 1995) se analizó el plexo de fibras musgosas del giro dentado de la formación hipocámpica, en ratas normales y malnutridas de 15, 30, 90 y 220 días de edad, los resultados de este estudio mostraron reducciones significativas del área

ocupada por las fibras musgosas en los animales malnutridos prenatalmente a los 15 días de edad, a los 30 días de edad no se encontraron diferencias significativas con respecto al grupo control, pero a los 90 y 220 días posnatales se observaron reducciones en este plexo (ver Fig. 8). Este estudio, donde se observan sobre todo efectos a largo plazo, sugiere que la información transmitida a través del circuito tri-sináptico del hipocampo, sea deficiente, ya que las células granulares representan el primer relevo sináptico del circuito, el cual se ha involucrado en procesos de memoria y aprendizaje, y el generador del ritmo theta ó actividad rítmica lenta del hipocampo en la rata.

De estos estudios se desprende que los procesos que se llevan al cabo durante el desarrollo pre y posnatal del Sistema Nervioso Central determinan la funcionalidad de los circuitos neurales, y que los factores externos nocivos, instalados durante los periodos críticos de desarrollo, vgr la malnutrición hipoproteínica, podrían provocar alteraciones en la manifestación funcional y fisiológica de la actividad eléctrica cortical en el ciclo de sueño-vigilia.

Con base a lo anterior, y debido a que en los análisis visuales del ECoG, hemos encontrado alteraciones en la arquitectura y manifestación circádica de los estados de vigilancia, en el presente proyecto se propuso realizar el análisis espectral de la actividad electrocorticográfica tanto de animales control como malnutridos en las edades posnatales de 30 y 60 días. Se pretendía encontrar las semejanzas y diferencias en las bandas de frecuencia, y, al mismo tiempo, definir si la malnutrición producía efectos diferenciales en las bandas del ECoG (ritmos delta, theta, y actividad rápida), para valorar las posibles alteraciones tanto homeostáticas como circádicas provocadas por la malnutrición prenatal.

Se evaluaron los mecanismos de recuperación cuando se privaron de SMOR a los grupos experimentales y controles, si persistían las alteraciones encontradas con la malnutrición crónica a corto y mediano plazo en los mecanismos de regulación de los estados de vigilancia y la actividad eléctrica cerebral, en particular en SMOR, producidas como consecuencia de la malnutrición durante el periodo gestacional únicamente (malnutrición prenatal), momento en el cual tienen lugar parte de los periodos críticos de desarrollo cerebral, en particular el desarrollo y establecimiento de aquellas estructuras que se encuentran relacionadas con la regulación del sueño y la vigilia y su ritmicidad circádica.

HIPÓTESIS.

Se sabe que la malnutrición perinatal produce alteraciones en el sistema nervioso central en desarrollo, y afecta ambos sistemas, el homeostático y el circádico, que regulan el ciclo de sueño y vigilia, y quizá también los parámetros de frecuencias de la actividad eléctrica cerebral de los diferentes estados de vigilancia.

La malnutrición crónica y prenatal con rehabilitación nutricional posnatal, produce efectos a corto y largo plazo sobre la manifestación fisiológica de la actividad cerebral. La rehabilitación posnatal en ratas malnutridas prenatalmente, no revierte ni amortigua los efectos producidos por la malnutrición.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si los efectos provocados por la malnutrición crónica y la prenatal son irreversibles, tomando como índice de integridad funcional la actividad eléctrica cerebral durante el ciclo de sueño y vigilia, empleando como herramienta la privación selectiva de SMOR.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- 1) Analizar la actividad eléctrica cerebral mediante análisis espectral de la frecuencia electrocorticográfica, empleando la Transformada Rápida de Fourier, en ratas normales, con malnutrición crónica y prenatal únicamente, sometidas a un periodo de 24 horas de privación selectiva de SMOR por la técnica de la plataforma rodeada de agua, y estudiarlas en edades posnatales de 30 y 60 días.
- 2) Obtener registros continuos de 24 horas durante 5 días experimentales: un día basal, 24 horas de privación selectiva de SMOR y tres días consecutivos de recuperación en cada uno de los grupos experimentales, a los 30 y 60 días de edad.

MATERIAL Y MÉTODO

ANIMALES.

Método de malnutrición.

Para el estudio se emplearon 2 grupos de ratas de la cepa Sprague-Dawley hembras (250-300gr) que fueron mantenidas *ad libitum*, uno en una dieta de 6% de caseína (malnutridas), y el otro en una dieta de 25% de caseína (controles) durante 5 semanas previas al apareamiento, (fue importante mantener este periodo con el propósito de restablecer el equilibrio metabólico impuesto por la dieta normal antes de la gestación, para asegurar que el daño que esta sufriendo el feto es específico dado que la madre no puede amortiguar totalmente los efectos de la malnutrición), la gestación y la lactancia; después del nacimiento las crías de las madres malnutridas (6%) fueron divididas en 2 grupos, unas continuaron con sus madres malnutridas (modelo de malnutrición crónica) y otro grupo fue transferido a una madre nodriza normal (25%) y alimentadas con la dieta normal después del nacimiento, durante el destete (el cual se lleva a cabo a los 21 días de edad) y hasta las edades estudiadas. Este procedimiento se llevó a cabo con el fin de instalar la malnutrición prenatal en un grupo de animales y su rehabilitación nutricional posnatal.

Dietas.

La malnutrición se realizó de acuerdo al modelo empleado previamente por Miorgane y cols (1978) el cual consiste en dietas con contenido proteínico variable, dieta control 25% de caseína, dieta experimental 6% de caseína.

TABLA II.

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS DIETAS *
COMPONENTES DIETAS

COMPONENTES	DIETAS	
	25% caseína	6% caseína
Proteína	21.8	5.3
Grasa	15.4	15.0
Carbohidratos	50.9	68.9
Mezcla de sales	4.7	4.0 **
Mezcla de vitaminas	1.0	1.0
Agua	2.2	1.2
Elemento no nutritivo	4.2	4.2
Kcal/g	4.3	4.3

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

** Fueron adicionados fosfato de calcio monobásico (0.6%) y carbonato de zinc (0.001%) a la mezcla de sales de esta dieta para mantener estos minerales en los niveles encontrados en las otras dietas de caseína.

Método de Privación Selectiva de SMOR

Se empleó la técnica de la plataforma rodeada de agua para privar de manera selectiva el SMOR. La privación de SMOR en los animales control se llevó a cabo en botes de 24X24X35 cm, con una plataforma de 6 cm de alto por 11 cm de largo y 2.5 cm de ancho en su interior para los animales de 30 días y para los de 60 días se emplearon plataformas de 6 cm de alto y 17.5X4 cm, y para los malnutridos se usaron plataformas de 6 cm de alto y 7.5X2.5 cm tanto para 30 como para 60 días (Fig 10b).

PROCEDIMIENTO DE REGISTRO

Para registrar la actividad eléctrica cerebral, se implantaron, mediante la técnica estereotáxica (Fig 11), electrodos de acero inoxidable en la corteza occipital izquierda, electrodos bipolares flexibles del mismo material en los músculos dorsales del cuello y un electrodo en el cerebelo como tierra; todos los

(A)

TABLA 5

Área (mm²) del plexo de fibras musgosas de la formación hipocámpica¹.

EDAD (días)	DIETA		% DE CAMBIO	SIGN.
	25/25	6/25		
NIVELES CORONALES HIPOCÁMPICOS				
1				
15	.238 ± .014	.200 ± .030	- 15.9	NS
30	.448 ± .033	.406 ± .045	- 9.3	NS
90	.553 ± .067	.451 ± .056	- 18.4	*
220	.555 ± .022	.453 ± .069	- 18.3	*
2				
15	.236 ± .014	.192 ± .016	- 18.6	*
30	.471 ± .043	.508 ± .022	+ 7.8	NS
90	.540 ± .037	.558 ± .027	+ 3.3	NS
220	.653 ± .024	.503 ± .029	- 22.9	*
3				
15	.221 ± .006	.168 ± .003	- 23.9	*
30	.419 ± .011	.447 ± .021	+ 6.6	NS
90	.480 ± .027	.535 ± .041	+ 11.4	NS
220	.579 ± .014	.438 ± .026	- 24.3	*
4				
15	.300 ± .011	.214 ± .013	- 28.6	*
30	.646 ± .043	.607 ± .023	- 6.0	NS
90	.694 ± .053	.580 ± .065	- 16.1	NS
220	.750 ± .050	.536 ± .099	- 28.5	*
5				
15	.473 ± .053	.533 ± .059	+ 12.6	NS
30	.815 ± .078	.787 ± .038	- 3.4	NS
90	.767 ± .055	.795 ± .189	+ 3.6	NS
220	.898 ± .042	.735 ± .023	- 18.1	*

¹Los valores representan el promedio ± la desviación estándar del área del plexo de fibras musgosas. SIGN. = significancia. NS = No significativo. (ANOVA DE UNA VÍATUKEY) * p < 0.05

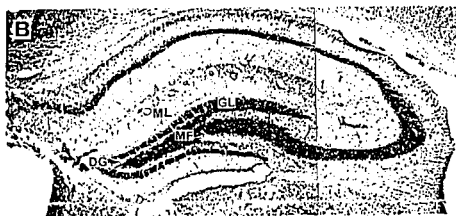


FIG. 10 En la tabla (A) se ilustra el área (en mm²) del plexo de las fibras musgosas del hipocampo de animales control (25/25) y rehabilitados (6/25) en 5 diferentes niveles coronales (anteroposteriores, 1-5) de la formación hipocámpica (n=8). Nótese la disminución significativa del área en diferentes edades según el nivel analizado en los animales 6/25. En (B) se puede observar un corte coronal del hipocampo derecho de un animal control de 90 días teñido con la técnica de TIMM, tinción específica para el plexo axónico, contrastada con violeta de cresilo. DG= giro dentado, GL= capa granular, MF= fibras musgosas, ML= capa molecular (Modificado de Granados, L., 1995).

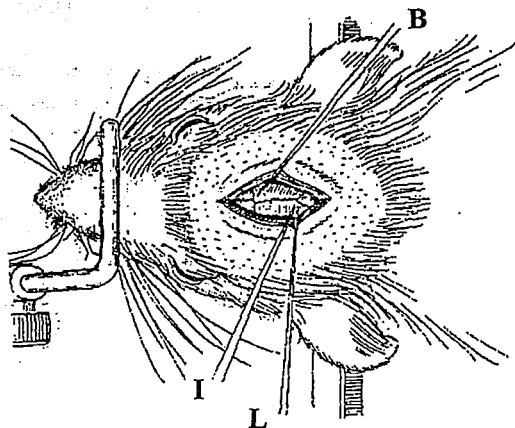


FIG 11 Esquema que ilustra el lugar para el implante de electrodos mediante el procedimiento estereotáxico. L= Lambda, B= Bregma, I= Implante en corteza occipital izquierda.

electrodos fueron soldados a un conector Amphenol que fue fijado al cráneo del animal con acrílico dental. El implante de electrodos se realizó en ratas macho a los 23 y 53 días de edad, esto es, 7 días antes de iniciar los registros electrocorticográficos (ECoG) para permitir su recuperación de la cirugía.

Se registraron 4 animales de manera simultánea y cada individuo fue colocado en una cámara sonoamortiguada de 38X38X114 cm, la cual estuvo iluminada por una lámpara fluorescente blanca. El día anterior al registro basal (día 29 y 59 de edad), cada animal se unió al conector de los cables de registro para permitir que se adaptara a las condiciones de registro en el interior de la cámara; los cables estaban unidos a un dispositivo especial que permitía libremente su giro ("slip ring" marca Airflyte de 9 terminales). El agua y el alimento se proporcionaron *ad libitum* y se empleó un ciclo alternante de 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz (OL12:12) con luz de las 20:00 a las 8:00h y 22 a 24°C de temperatura ambiente. Todos los registros fueron iniciados en la fase de actividad (oscuridad) (Fig. 10a). La privación de SMOR comenzó durante la fase de actividad y finalizó al término de la fase de reposo del animal, provocando así el "conflicto" entre el proceso homeostático manifestado por una propensión incrementada al SMOR causada por las 24 horas de privación selectiva de SMOR y una tendencia por la vigilia y la actividad como consecuencia del proceso circádico y la condición de oscuridad. Se obtuvieron registros de 24 horas de duración de la actividad eléctrica cortical a los 30 y 60 días de edad (día basal 1), y tres días consecutivos (3, 4 y 5) de recuperación, después de 24 h de privación de SMOR (día 2), en un polígrafo Grass Modelo 7D de 8 canales (al término del día basal los animales fueron colocados en los botes con plataforma rodeada de agua para llevar a cabo la privación selectiva de SMOR).

Análisis Espectral

Simultáneamente al registro en el polígrafo las señales fueron capturadas en una computadora 486 mediante un convertidor A/D. Aplicando una rutina de Software para la captura y procesamiento de las señales, dicha rutina emplea la Transformada Rápida de Fourier para el análisis espectral de las frecuencias del ECoG.

El análisis del espectro de frecuencias de las señales ECoG se realizó aplicando rutinas de software: Captusen, para la captura y revisión de señales; Espectro, para obtener los espectros de potencia de las señales capturadas; Filband, para delimitar los cortes de bandas de frecuencia así como obtener los valores de potencia absoluta y relativa para cada banda de interés (delta, theta y actividad rápida). Estas rutinas fueron diseñadas en la UNAM (Guevara, 1995) y modificadas para los requerimientos del presente estudio. La utilización de dichas rutinas nos permite evaluar los parámetros espectrales de los sujetos experimentales.

Las capturas de las señales eléctricas cerebrales se realizaron con una frecuencia de muestreo de 128 Hz, tomándose segmentos de 512 puntos, equivalentes a 4 segundos, estos datos fueron procesados en Filband para obtener los espectros de potencias absolutas y relativas cada 450 segmentos (media hora en tiempo real) posteriormente mediante el uso de una hoja de cálculo (Excel) fueron graficadas las potencias relativas para las bandas de delta, theta y actividad rápida de ratas control, malnutridas crónicamente y rehabilitadas de 30 y 60 días de edad, en el día basal, el día de privación selectiva de SMOR y los tres días consecutivos de recuperación.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos en el análisis espectral de la actividad eléctrica cerebral de todos los sujetos se compararon estadísticamente mediante una prueba estadística de varianza de parcelas divididas de tres factores para determinar las diferencias significativas en los parámetros de dieta y recuperación de sueño durante y entre los días, asimismo, se aplicó la prueba de Tukey (*post hoc*) para determinar las diferencias significativas entre los grupos experimentales en la primera y última hora de la fase de actividad y de reposo, en las diferentes bandas estudiadas.

RESULTADOS.

PLATAFORMA DE PRIVACIÓN SELECTIVA DE SMOR.

Se consideraron las medidas de la talla corporal en los animales de 30 y 60 días de edad empleados para el estudio. Los límites se establecieron desde la narina hasta el inicio de la cola, en los grupos CO, MA y Rh. Se tomó como referencia para obtener las dimensiones adecuadas de la plataforma empleada para producir la privación selectiva de SMOR. De acuerdo al análisis estadístico (prueba "t" de student bilateral) los grupos CO y Rh, no presentan diferencias significativas en cuanto a talla corporal en ambas edades estudiadas. Al comparar el grupo MA con respecto al CO se observó una reducción significativa de la talla corporal de un 30% a la edad de 30 días y de 70% a los 60 días de edad posnatal. Al realizar el análisis estadístico por edad, el grupo malnutrido crónico no presentó diferencias estadísticamente significativas.

Una vez determinadas las dimensiones de la plataforma y las diferencias en la talla corporal de los grupos CO, MA y Rh, se emplearon (como ha sido descrito en la metodología), para el grupo control una plataforma de 6 cm de alto por 11 cm de largo y 2.5 cm de ancho en su interior para los animales de 30 días y para los de 60 días se emplearon plataformas de 6 cm de alto y 17.5X4 cm. En tanto que para los malnutridos de 30 y 60 días se usaron plataformas de 6 cm de alto y 7.5X2.5 cm. Y, finalmente, dado que el grupo Rh no presentó diferencias estadísticamente significativas con el grupo CO, se emplearon para ambos las mismas dimensiones.

En el siguiente cuadro se presentan las tallas y las dimensiones de las plataformas para cada una de las condiciones experimentales en las dos edades estudiadas.

Cuadro I

TAMAÑO CORPORAL DE LAS RATAS A LOS 30 Y 60 DÍAS DE EDAD Y DIMENSIONES DE LAS PLATAFORMAS EMPLEADAS EN LA PRIVACIÓN SELECTIVA DE SMOR (n=12 PARA CADA GRUPO)

30 DÍAS

Grupo	Talla \bar{x} (ee)	Plataforma
CO	12.02 cm (0.156)	11x2.5 cm
MA	8.763 cm *** (0.202)	7.5x2.5 cm
Rh	12.1cm (0.193)	11x2.5 cm

60 DÍAS

CO	18.71 cm (0.567)	17.5x4 cm
MA	8.475 cm *** (0.158)	7.5x2.5 cm
Rh	19.067 cm (0.493)	17.5x4 cm

***p<0.001

ANÁLISIS DE FOURIER (espectral).

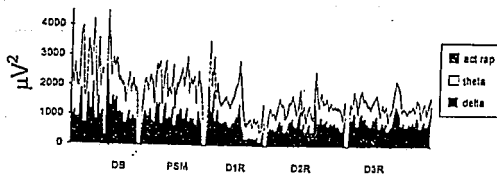
ANIMALES DE 30 DÍAS DE EDAD.

En la Fig. 12 se muestran los espectros de potencias absolutas durante los 5 días experimentales en animales CO, MA y Rh de 30 días de edad. En el animal control la potencia absoluta registrada en el día basal, disminuye después del día de privación selectiva y no se observa una recuperación de la potencia durante los 3 días de recuperación, obsérvese la contribución de cada una de las bandas de frecuencia al espectro de potencia total. En el rehabilitado se observa que la potencia absoluta tiende a aumentar desde el primer día de recuperación, y, en el malnutrido la potencia absoluta se mantiene a lo largo de los 5 días experimentales. Nótese en este grupo que el aporte de la banda de actividad rápida es significativamente mayor al observado en los grupos CO y Rh. Se presentan espectros de potencia de solo un animal representativo de cada grupo.

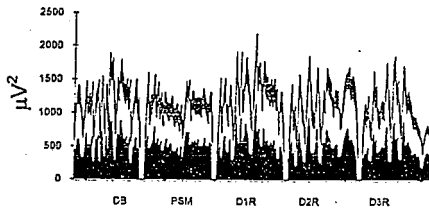
En la figura 13 se presentan las gráficas de potencias relativas de las bandas de frecuencia delta, theta y actividad rápida, comparadas en los tres grupos experimentales: CO, MA y Rh de 30 días de edad durante 4 de los 5 días experimentales (se excluye el día de privación de SMOR): el día basal, y los tres días consecutivos de recuperación. En la banda delta se observa que los animales Rh y los CO no presentan diferencias significativas durante los días experimentales, en cuanto a los MA al ser comparados con los CO presentan menor potencia relativa en los días de recuperación; al ser comparados con los controles, en el segundo día de recuperación presentan diferencias significativas en la última hora del periodo de oscuridad y en el tercer día de recuperación presentan disminuciones estadísticamente significativas en la primera hora de la

POTENCIA ABSOLUTA

CO



MA



RH

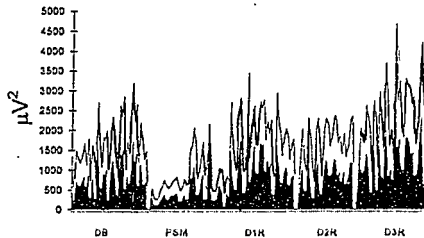


FIG. 12 Se presentan los espectros de potencia absoluta durante los 5 días experimentales (cada día se separó de los consiguientes por un espacio pequeño en blanco) en animales de 30 días de edad, en las tres condiciones estudiadas: CO, MA y Rh. Se graficó un animal representativo de cada grupo a intervalos de 30 minutos en c/día. Nótese que después de la privación de SMOR la potencia absoluta disminuye en los controles (CO), aumenta en los malnutridos prenatalmente (Rh) y no cambia en los malnutridos crónicos (Ma). Nótese también la contribución de la potencia en μV^2 de cada banda en los tres grupos.

fase de oscuridad y en la última hora de la fase de luz. En cuanto a la comparación del MA vs el Rh el MA presenta una reducción significativa en la última hora de la fase de oscuridad en el primer día de recuperación. Entre los CO y los Rh no hubo diferencias significativas.

En la banda theta (4-12 Hz) durante los 5 días experimentales, en los tres grupos estudiados, no hubo diferencias estadísticamente significativas.

La potencia relativa de la banda de frecuencia de actividad rápida, al comparar CO vs MA se hace evidente desde el día basal un incremento en la potencia de la banda, incremento que se mantiene durante los demás días experimentales. Al realizar la comparación entre los CO y los Rh, los malnutridos prenatalmente sólo presentan una reducción significativa de la potencia de la banda al inicio y al final de la fase de luz del día basal, y al final de la fase de oscuridad durante el tercer día de recuperación.

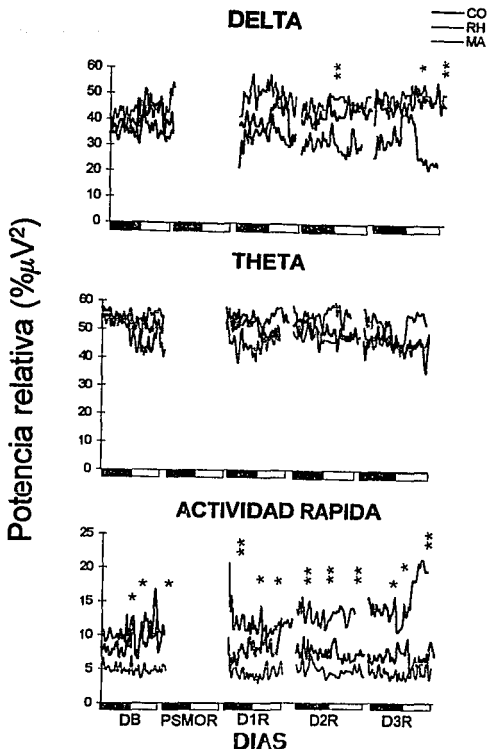


FIG. 13 Se muestran las gráficas del espectro de las potencias relativas de la banda delta (0.5-3.75 Hz), theta (4.0-12.0 Hz) y actividad rápida (12.0-25.0 Hz) en los grupos de 30 días de edad (n=6). Se graficó la \bar{x} a intervalos de 30 minutos en cada grupo: CO, MA y RH, durante el día basal (DB) y los tres días consecutivos de recuperación (D1R, D2R y D3R) después de un período de 24 horas de privación de selectiva de SMOR (PSMOR). Nótese el aumento significativo de la potencia relativa de la banda de actividad rápida en el grupo MA. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

ANIMALES DE 60 DÍAS DE EDAD.

En la Fig. 14 se muestran los espectros de potencias absolutas durante los 5 días experimentales en animales CO, MA y Rh de 60 días de edad. En el animal control la potencia absoluta registrada en el día basal, disminuye después del día de privación selectiva y no se observa una recuperación de la potencia durante los 3 días de recuperación, obsérvese la contribución de cada una de las bandas de frecuencia al espectro de potencia total. En el rehabilitado se observa que la potencia absoluta tiende a aumentar desde el primer día de recuperación, y, en el malnutrido la potencia absoluta se mantiene a lo largo de los 5 días experimentales. Nótese en este grupo que el aporte de la banda theta en ambos componentes, (de 4.0-7.0 Hz) lento (L) y de 7.0-12.0 Hz rápido (R), es significativamente mayor al observado en los grupos CO y Rh. Se presentan espectros de potencia de solo un animal representativo de cada grupo.

En la figura 15 se presentan las gráficas de las potencias relativas de las bandas delta y la banda de actividad rápida. En la banda delta se observan reducciones estadísticamente significativas del grupo malnutrido prenatalmente (Rh) durante la última hora de la fase de actividad del día basal y la primera hora de la fase de actividad y la última de reposo del tercer día de recuperación. No hay diferencias significativas entre el grupo CO y el MA. En la banda de actividad rápida no se presentan diferencias significativas entre los grupos experimentales y el CO.

En la figura 16 se muestran las gráficas de las potencias relativas de las bandas theta L, y theta R. El análisis estadístico reveló diferencias significativas en ambas bandas de frecuencia theta, al comparar a los animales CO vs MA, y CO vs Rh revelando un incremento en la potencia relativa de la banda de theta L durante ambas fases del día basal, al inicio de la fase oscura del primer día de

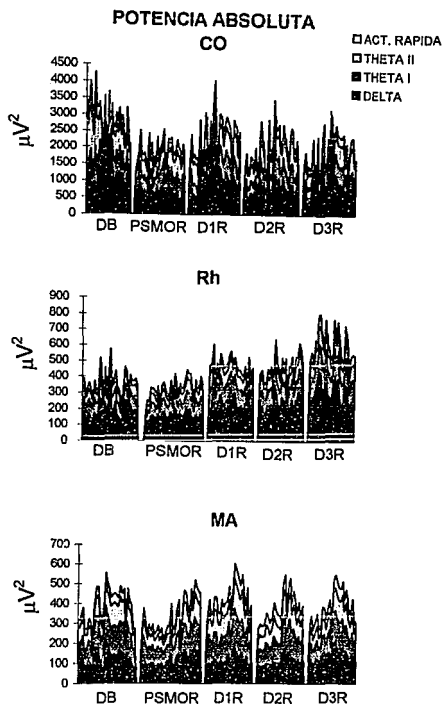


FIG. 14 Se presentan los espectros de potencia absoluta durante los 5 días experimentales(cada día se separó de los consiguientes por un espacio pequeño en blanco) en ratas de 60 días de edad, en las tres condiciones estudiadas: CO, MA y Rh. Se graficó un animal representativo de cada grupo a intervalos de 30 minutos en c/día. Nótese que después de la privación de SMOR la potencia absoluta disminuye en los controles CO), aumenta en los malnutridos prenatalmente (Rh) y no cambia en los malnutridos crónicos (Ma). Nótese también la contribución de la potencia en μV^2 de cada banda en los tres grupos.

recuperación, al inicio de la fase de luz del segundo día de recuperación y al inicio y al final de la fase de luz del tercer día de recuperación. La banda theta R sólo presentó una disminución estadísticamente significativa, en los MA, al inicio de la fase de actividad durante el día basal. El grupo Rh con respecto al CO presentó un incremento estadísticamente significativo durante la primera y última horas de la fase de reposo del día basal, este incremento se mantuvo durante los días de recuperación, siendo estadísticamente significativo durante la última hora de la fase de actividad y la primera y última horas de la fase de reposo del primer día de recuperación, así como durante la primera y última horas de la fase de actividad y la última hora de la fase de reposo del segundo día de recuperación y finalmente durante la primera hora de la fase de actividad y la última hora de la fase de reposo del tercer día de recuperación.

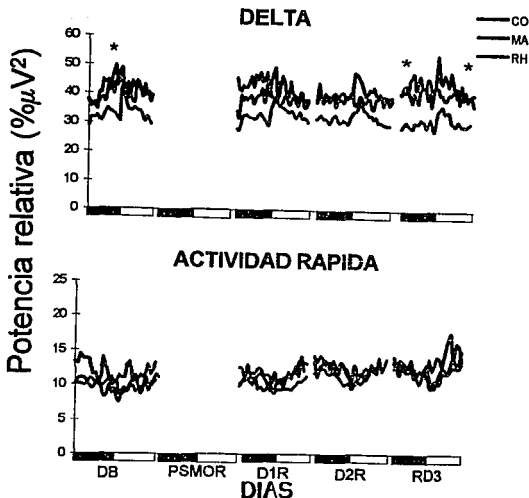


FIG. 15 Se muestran las gráficas del espectro de las potencias relativas de la banda delta (0.5-3.75 Hz), y actividad rápida (12.0-25.0 Hz) en los grupos de 60 días de edad (n=6). Se graficó la \bar{x} a intervalos de 30 minutos en cada grupo: CO, MA y RH, durante el día basal (DB) y los tres días consecutivos de recuperación (D1R, D2R y D3R) después de un periodo de 24 horas de privación de selectiva de SMOR (PSMOR). Nótese las disminuciones significativas en la banda delta en el grupo RH. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

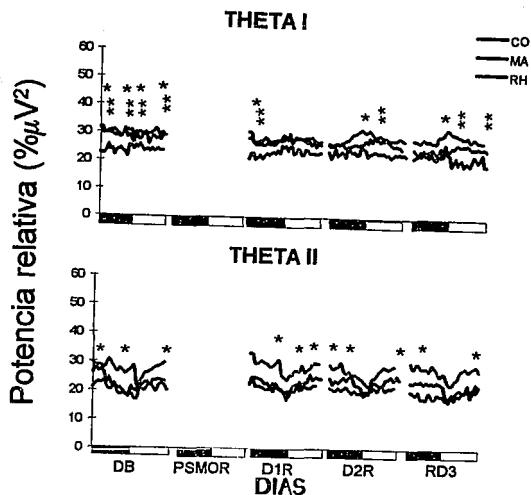


FIG. 16 Se muestran las gráficas del espectro de las potencias relativas de las bandas theta I (4.0-7.0 Hz) y de theta II (7.0-12.0 Hz) en los grupos estudiados: CO, MA y Rh de 60 días de edad (n=6). Se graficó la \bar{x} a intervalos de 30 minutos en cada grupo, durante el día basal (DB) y los tres días consecutivos de recuperación (D1R, D2R y D3R) después de un periodo de 24 horas de privación de selectiva de SMOR (PSMOR). Nótese los aumentos significativos en ambas bandas en los grupos MA y RH, con excepción de la disminución significativa en la frecuencia de la banda theta R en los MA. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

DISCUSIÓN.

En el presente estudio se utilizó un ciclo de luz-oscuridad (12:12) invertido, es decir, se inició el experimento durante la fase de actividad (oscuridad) se continuó durante la fase de luz, con la finalidad de que al término de la PS el animal se encontrara ante una "situación conflicto" dada por un lado por el comportamiento homeostático del sueño, que induciría al animal a dormir, y por otro lado, el comportamiento circádico que lo induciría a mantenerse despierto (Borbély y Neuhaus, 1979).

Se ha observado que la malnutrición proteínica pre y posnatal produce una reducción significativa en el peso y tamaño corporal de la rata (Resnick y cols., 1982, Durán, 1993), en nuestros animales con rehabilitación nutricional posnatal se observó una recuperación completa de peso y tamaño corporal con respecto a los controles.

En nuestro estudio, dado que el tamaño de los animales malnutridos crónicos es diferente a los controles, se requirió de determinar las dimensiones más adecuadas de la plataforma de privación para lograr una privación selectiva de SMOR, sin alterar considerablemente los demás estados de vigilancia, y asimismo, reducir el estrés producido por la técnica. Además de las dimensiones de la plataforma, también se modificó su forma, (ya que, por lo general, la plataforma de privación es circular). En el presente estudio empleamos una plataforma rectangular, basados en el hecho de que la rata es un animal que adopta una postura especial durante el SOL, esto es, se mantiene siempre sobre su vientre y sus 4 patas flexionadas, y con la cabeza inclinada sobre el tórax. La adopción de esta postura no se altera durante la privación selectiva de SMOR cuando se emplea una plataforma rectangular, ni tampoco se altera la presentación del SOL (ver Fig. 17). Sin embargo, el SMOR, fase durante la cual se presenta atonía muscular, se reduce al mínimo debido a que la plataforma es

DIA	CONTROL			VIG	DESNUTRIDO		
	O	L	OL		O	L	OL
1	42.7 (1.6)	42.7 (1.6)	48.5 (2.1)	42.4 (1.6)	33.9 (2.2)	38.5 (1.7)	
2	42.8 (1.5)	42.8 (1.4)	52.5 (1.5)	38.9 (1.9)	42.4 (2.6)	49.7 (2.6)	
3	41.3 (1.7)	33.1 (1.5)	36.7 (1.2)	43.4 (1.7)	33.5 (1.9)	38.6 (1.3)	
4	45.0 (4.1)	33.5 (3.4)	39.2 (3.8)	33.7 (2.4)	28.9 (1.9)	41.3 (2.6)	
5	46.8 (2.6)	40.1 (0.1)	43.3 (1.3)	45.8 (4.0)	28.9 (1.3)	41.2 (2.7)	
1	37.6 (10.7)	48.9 (8.3)	42.2 (3.2)	30.9 (2.0)	34.8 (2.7)	48.3 (1.4)	
2	36.9 (1.7)	52.3 (1.4)	46.1 (1.1)	31.8 (2.3)	36.4 (2.3)	48.6 (2.5)	
3	40.4 (1.6)	59.3 (2.5)	49.6 (2.3)	39.0 (4.2)	33.8 (2.8)	48.4 (1.3)	
4	42.1 (4.1)	39.5 (4.2)	50.8 (4.3)	37.8 (4.2)	38.3 (1.8)	46.5 (2.8)	
5	39.7 (2.3)	52.7 (1.8)	48.2 (2.0)	44.1 (4.4)	36.1 (0.8)	51.1 (2.1)	
1	11.1 (1.4)	12.8 (1.2)	10.8 (1.1)	12.7 (1.1)	11.9 (2.0)	12.3 (2.5)	
2	0.3 (0.1)	2.5 (0.3)	1.4 (0.1)	0.2 (0.1)	1.2 (0.4)	0.7 (0.3)	
3	18.2 (1.7)	9.4 (1.2)	13.8 (1.3)	17.8 (3.3)	12.4 (3.4)	15 (2.5)	
4	12.9 (1.1)	7.0 (1.2)	10.0 (0.5)	8.6 (2.1)	12.1 (0.8)	10.3 (1.3)	
5	13.7 (0.5)	7.2 (1.2)	10.5 (0.7)	10 (1.5)	13 (1.6)	11.3 (1.3)	
1	47.7 (1.6)	59.8 (8.1)	53.7 (2.4)	56.6 (3.3)	44.5 (2.2)	61.5 (1.7)	
2	37.7 (1.7)	57.0 (1.7)	47.3 (1.0)	43.1 (2.8)	57.6 (2.6)	50.3 (2.8)	
3	58.0 (1.5)	68.3 (1.8)	63.6 (1.2)	56.8 (3.7)	66.2 (2.7)	81.4 (2.2)	
4	55 (4.1)	66.5 (2.4)	60.8 (2.8)	46.3 (2.4)	71.2 (1.8)	58.8 (2.6)	
5	53.4 (2.6)	59.9 (1.1)	56.7 (1.3)	54.1 (4.0)	71.1 (1.3)	82.6 (2.7)	

Fig. 17 Nótese que al utilizar la plataforma rectangular no se alteran los valores basales de SOL de manera estadísticamente significativa durante los 5 días experimentales, pero si hay una reducción significativa del SMOR durante las 24h de privación. (Tomado de Durán, 1993).

tan angosta que el animal tiende a perder el equilibrio o llega a caer de ella, movimiento que lo devuelve a VIG.

La técnica de la plataforma rodeada de agua ha sido criticada duramente por sus efectos estresantes, compuestos de varios factores: la restricción de movimiento, el aislamiento, las mojadadas recurrentes y la angustia emocional (el miedo a caer al agua mientras el animal duerme), los cuales son inherentes al procedimiento. A pesar de lo anterior, el método de la plataforma se ha utilizado en centenares de experimentos dada su simplicidad y accesibilidad, y es aceptado como un método válido si se compara con el denominado "control de estrés", en el cual se coloca al animal en plataformas grandes que permiten la posición relajada típica del SMOR sin el peligro de caer en el agua. Sin embargo, ha sido demostrado que colocar a los animales en plataformas pequeñas, medianas o grandes afecta por igual su equilibrio emocional (Kovalzon y Tsibulsky, 1984); es obvio, por tanto, que no hay un perfecto control para el estrés producido por la técnica de la plataforma, esperando tan solo que la privación de SMOR tenga más peso que la cantidad de estrés presente. Coenen y Van Luijtelaar, (1985) comparando tres técnicas de privación selectiva de SMOR, el péndulo, la plataforma clásica y la plataforma múltiple, reportaron que el estrés producido por la privación en cualquiera de ellas es moderado, y tampoco se observan diferencias electrofisiológicas críticas entre las tres técnicas (Van Luijtelaar y Coenen, 1986). Ahora bien, Mark y cols. (1969) al analizar el denominado "control de estrés", usando ratas Wistar encontraron reducción del SOL en los grupos de plataforma pequeña y grande por igual, lo mismo fue reportado por Grahnedt y Ursin (1985); Mouret y cols (1969) encontraron reducción en el sueño no-MOR en ambas plataformas en ratas Charles-River, Mendelson y cols (1974) usando ratas Sprague-Dawley, no reportaron cambios significativos en el sueño no-MOR durante las primeras 24 horas de privación en ningún grupo. En los estudios citados, fueron utilizadas diferentes cepas de ratas,

las diferencias de las cepas en los efectos de la privación de sueño ya han sido demostradas en el ratón (Kitajama y cols., 1980). Por lo anterior, es posible que las diferencias de cepas en la susceptibilidad a los aspectos de estrés del método de la plataforma de privación de sueño (Kovalzon y Tsibulsky, 1984, Mark y cols., 1969, Murison y cols., 1982) estén desempeñando un papel importante, en la respuesta a la privación selectiva. Asimismo, ratas Wistar sometidas a privación de SMOR por la plataforma y sus controles, presentaron reducción del 20% del peso corporal sugiriendo un efecto de estrés en ambos grupos (Grahnstedt y Ursin, 1985). Recientemente, Corsi y cols (1994) reportaron en ratas Wistar adultas que la privación selectiva de SMOR produce una disminución en la correlación intraparietal, un aumento en la potencia absoluta de la banda theta después de la privación con la plataforma pequeña, la potencia relativa de la banda theta también se aumentó en el grupo de plataforma grande; sugiriendo con estos hallazgos que la privación selectiva de SMOR puede afectar la función cerebral al aumentar el nivel de excitación hipocámpal, mientras que la combinación de estrés y privación afecta el acoplamiento interhemisférico. Por lo que la respuesta al estrés y la reducción de sueño no-MOR pueden ser un efecto inespecífico de la técnica de privación, posiblemente dependiente de la cepa.

Por otro lado, se sabe que las ratas infantiles presentan hipersensibilidad a factores ambientales al compararse con las adultas. La maduración de la respuesta neuroendócrina al estrés en este organismo se presenta a partir del día 5 posnatal (Shapiro, 1968). La reducción del SMOR a los niveles del adulto ocurre a la edad de aproximadamente 30 días (Jouvet-Mourinier, y cols., 1970). Sin embargo, a ésta edad, las ratas despliegan una hipersensibilidad a los efectos conductuales de la privación de SMOR (Hicks, y cols., 1979). Puesto que las ratas expuestas a privación selectiva de SMOR en nuestro experimento eran juveniles, es posible sugerir que las diferencias observadas entre los efectos de privación y el posible estrés impuesto por la técnica fueron modificadas por un lado, por el

factor edad y por otro por la susceptibilidad de la cepa a los factores ambientales de estrés.

Finalmente, considerando que en las ratas que se encuentran en las plataformas pequeñas se opera una interacción entre el SMOR y un estrés emocional, y que es bien conocido que la privación breve de sueño (6-12 hr), al principio, provoca el rebote del sueño profundo y lento, y luego afecta el SMOR (Borbély, 1985), puede sugerirse que el SMOR desempeña un papel clave en la regulación y la función vital del organismo.

Asimismo, ha sido evidente que la malnutrición crónica produce retrasos en la manifestación fisiológica de los estados de vigilia, en los animales malnutridos, se ha reportado que ha mayor inmadurez del animal (en particular, en la rata) la actividad eléctrica cerebral se manifiesta con mayor cantidad de sueño (Gransbergen, 1976a, Salas y Cintra, 1975, Cintra y cols., 1988, Durán, 1993), en cuanto a los animales rehabilitados al observar la arquitectura del sueño estos presentan una disminución del SOL a expensas de la vigilia durante la fase de actividad, estos hallazgos nos permiten suponer que los mecanismos de regulación de los estados de vigilia han sido alterados durante el periodo prenatal y la rehabilitación nutricional no es suficiente para revertir, pero si amortiguar los daños producidos por la malnutrición.

Estos patrones modificados de la arquitectura del sueño pueden ser interpretados como alteraciones de fase del ciclo circádico de sueño y vigilia, lo que nos permitiría pensar que se encuentran dañadas algunas de las estructuras que están formando parte del sistema circádico, por ejemplo el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (Alföldi y cols., 1990), o alguna de sus vías, como la retinohipotalámica o la relación que existe entre el NSQ y la glándula pineal (Mouret y cols., 1974). Después de la privación los animales rehabilitados presentaron un cambio de fase completo en el comportamiento de la vigilia y el SOL, amortiguándose su efecto sobre el SMOR. Los adelantos o retrasos de fase se localizaron en los bloques cercanos a los cambios de luz, hallazgos que apoyan la idea de que existen osciladores independientes que están regulando cada uno de los estados de vigilia (Borbély, 1978) y que son estructuras de generación prenatal o pre y posnatal como el NSQ, que comienza su generación en el último tercio de la gestación y se extiende hasta los 30 días de edad posnatal en la rata.

Uno de los supuestos que es importante mencionar es que entre los 30 y 35 días la rata aún no ha completado la maduración en cuanto a la cantidad de SMOR y a la aparición del ciclo de actividad-reposo y de sueño y vigilia, ya que se conoce que la amplitud del ritmo de 24 horas del ciclo de sueño y vigilia se incrementa considerablemente durante la transición del infante a la edad adulta. Los datos presentados del análisis visual en los animales de 30 días son un hallazgo interesante dado que en los experimentos previos, empleando privación de SMOR pero en animales malnutridos, y analizando el ciclo de sueño y vigilia, las diferencias significativas se presentaron en los cambios de los periodos de luz a oscuridad y de oscuridad a luz, en estos resultados encontramos también las diferencias alrededor de estos periodos, esto nos habla de que los animales rehabilitados presentan alteraciones que fueron producidas en su etapa prenatal de desarrollo, durante la cual se encontraron en malnutrición, dichas alteraciones fueron parcialmente amortiguadas, pero no revertidas por la rehabilitación nutricional.

En relación a la hipótesis propuesta por Borbély en su modelo, en el que la intensidad del sueño NoMOR regula el proceso homeostático y otro mecanismo independiente regula el proceso circádico, en los resultados presentados del análisis espectral en ambas edades estudiadas (30 y 60 días de edad), tanto de la potencia absoluta como relativa, se observa que el animal normal durante la fase de oscuridad hay un aumento en la banda delta y en la fase de luz disminuye en el día basal, como ha sido reportado por Borbély para ratas adultas (Borbély y cols. 1984, 1987). Este patrón también se observó en el animal malnutrido, pero con menor potencia absoluta y en el rehabilitado también se presentó menor potencia absoluta, y aumenta en lugar de disminuir durante la fase de luz (a los 30 días de edad).

Después de la PS en el animal normal se hace más prominente el aumento de las ondas lentas durante la fase de oscuridad y disminuye en la fase de luz, tanto en potencia absoluta como en la relativa y en los siguientes dos días (de recuperación) se distribuyen como en el primer día, pero sin recuperarse del todo. En el control de 30 días después de la privación selectiva, en la banda delta se presenta un comportamiento bifásico similar al reportado por Borbély y Neuhaus (1979), con la técnica de privación total de sueño por el cilindro rotatorio.

La actividad cerebral observada en el animal rehabilitado a los 30 días de edad tiene un comportamiento diferente al del control en los primeros tres días experimentales presentados, tomando como indicador la banda de frecuencia delta se puede observar en el rehabilitado con respecto al control que se presenta un adelanto en la fase, esto es, presenta el cambio de fase no al cambio de oscuridad a luz, sino antes del cambio de luz a oscuridad; en el día de privación hay un retraso en la fase del malnutrido con respecto al control, y nuevamente se presenta un adelanto de fase en el rehabilitado al momento del cambio de oscuridad a luz durante el primer día de recuperación. En cuanto al animal malnutrido, también se presentan estas alteraciones de fase localizadas en los periodos cercanos a los cambios de luz. Estos retrasos y avances en las fases de las bandas de frecuencia nos permite suponer, como en el análisis visual, que se encuentra alterada la manifestación fisiológica de la regulación del ritmo circádico de sueño-vigilia.

Una observación interesante es que el animal malnutrido a los 30 días de edad presenta la banda de actividad rápida incrementada con respecto a los animales control y rehabilitado, probablemente esto pudiera ser un indicativo de la hiperactividad que presentan estos animales, en donde sería la actividad rápida y no el componente de vigilia de theta, el que se estuviera expresando, por lo anterior podría sugerirse que el circuito tálamo-cortical pudiera presentar daños

en su configuración anatómica y fisiológica producidos por la malnutrición, manifestándose como alteraciones en la regulación de los mecanismos que controlan la desincronización cortical. Se sabe que los principales sistemas moduladores que activan al tálamo y la corteza cerebral son: 1) neuronas que liberan acetilcolina en el tálamo y que se localizan en dos núcleos de la unión mesopontina: el área peribraquial del núcleo TPP y el núcleo TLD. Las proyecciones colinérgicas a las áreas corticales provienen del núcleo basal localizado en la parte basal del diencefalo. 2) En la parte rostral del cerebro llegan proyecciones talámicas con propiedades activadoras y posiblemente glutamatérgicas. 3) Finalmente, las neuronas del Locus coeruleus que usan norepinefrina y que proyectan al tálamo (en menor proporción que el sistema colinérgico), pero inervan directamente la corteza cerebral. Otras células que contienen monoaminas son neuronas histaminérgicas de la región tubero-infundibular del hipotálamo posterior que proyectan a algunos núcleos talámicos y a la corteza cerebral. Estos núcleos reguladores no contienen un solo tipo de neuronas, por ejemplo, neuronas que usan el neurotransmisor inhibitorio GABA coexisten con células colinérgicas en el núcleo basal, los núcleos TPP y TLD, y en estos núcleos algunas células colinérgicas muestran una co-localización con las de glutamato y colin-acetiltransferasa.

Los neurotransmisores que se liberan por los sistemas moduladores producen una excitabilidad incrementada y una reducción o supresión de los procesos inhibitorios duraderos en las células tálamo-corticales y corticales. Los sistemas colinérgicos en el tallo cerebral causan dos principales efectos en el tálamo: una excitación directa de las células tálamo-corticales y una desinhibición de las mismas, provocada por una inhibición a las neuronas GABAérgicas tálamo-reticulares. Hemos realizado estudios histológicos y anatómicos en diversas áreas cerebrales en donde la malnutrición, ya sea prenatal o crónica, produce alteraciones, por lo que cabría esperar que si no en su totalidad si una

buena parte de las estructuras cerebrales se encuentran dañadas por la malnutrición, por lo que podría sugerirse que las alteraciones encontradas en la manifestación fisiológica de la actividad cerebral rápida son producidas por daños a nivel de los mecanismos reguladores de la desincronización cortical, o actividad rápida. La banda de frecuencia theta en los animales de 30 días de edad no presentó alteraciones significativas, aún cuando se les sometió a los animales a una privación selectiva de SMOR, en el cual el componente principal de la actividad cerebral es el ritmo theta, estos hallazgos podrían ser debidos a una falta de maduración en las estructuras que regulan los mecanismos homeostáticos del ciclo de sueño-vigilia

Asimismo, al realizar la comparación de ambos análisis, visual y espectral, y tomando en cuenta que el análisis visual reporta la cantidad de tiempo consumida en cada uno de los estados de vigilancia a lo largo de las 24 horas de los 5 días experimentales y que el análisis espectral muestra la potencia (absoluta o relativa), de cada una de las bandas de frecuencia, delta, theta y actividad rápida durante los días experimentales, en el animal control, en el día basal comparando la banda delta con el SOL ambos aumentan durante la fase de actividad y disminuyen durante la fase de luz, la banda theta y el SMOR presentan un comportamiento similar entre sí, disminuyendo durante la fase de oscuridad y aumentando durante la fase de luz.

Se sabe que la concentración de proteínas en los tejidos se afecta fácilmente por alteraciones nutricionales como los cambios en la calidad o cantidad de las proteínas de la dieta. Estos cambios en el metabolismo de las proteínas pueden reflejarse directamente en la síntesis de proteínas y en el perfil de los polirribosomas y el retículo endoplásmico. En el contexto de la malnutrición la deficiencia de proteína produce una reducción en la síntesis de proteínas por la reducción en el cerebro de las concentraciones de aminoácidos esenciales. Una

de las primeras evidencias directas de que el suplemento de aminoácido puede influenciar la síntesis de proteína neuronal la dieron Parks y cols., en 1976, después se demostró que la composición de los aminoácidos es importante para la síntesis de proteínas en el cerebro, por lo que Yokogoshi y cols. (1992) han sugerido que si la composición de aminoácidos en la dieta es buena, la concentración de aminoácido en suero y en consecuencia en el cerebro, pueden mejorarse, así como la síntesis de proteínas cuantificada por la agregación de polirribosomas.

En otro estudio Stern y cols. (1976) encontraron elevada la síntesis de proteínas en ratas malnutridas con una dieta de 8% de caseína en el día 1º del nacimiento, la cual fue reduciéndose posteriormente del día 5 al día 21 utilizando la técnica de leucina marcada con carbono 14.

Por otra parte Takahashi y Turek (1987) encontraron que al administrar inhibidores de la síntesis de proteínas como la anisomicina y la ciclohexamida en hámsters adultos que se mantuvieron en oscuridad constante, se produjeron tanto avances como retrasos de fase en el ritmo circádico de la actividad locomotora. También Rainbow y cols. (1980) demostraron que la inyección subcutánea de anisomicina inhibió la síntesis de proteínas en el área preóptica del hipotálamo en un 90% dentro de los 30 minutos siguientes a su aplicación, efecto que se revirtió a las 6 horas. Estos resultados sugieren que la administración periférica de anisomicina puede tener un efecto en la ritmicidad circádica en los mamíferos ya que la inyección subcutánea de anisomicina podría inhibir la síntesis de proteínas en el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo, que se sabe regula varios ritmos circádicos en los roedores (Moore, 1983, Takahashi y Zats, 1982, Turek, 1985). Por lo que el núcleo supraquiasmático representa el posible locus donde la anisomicina produce los cambios de fase del ritmo circádico de la actividad, ya que estudios recientes indican que la microinyección de anisomicina

directamente en el NSQ también producen cambios de fase en el ritmo de la actividad locomotora, similar al de inyecciones subcutáneas de esta droga (Inouye y cols. 1985), existe abundante literatura en la que se indica que los inhibidores de la síntesis de proteína tanto en los denominados ribosomas 80s como aquellos que inhiben el proceso de traslación celular, producen alteraciones en la fase de los ritmos circádicos en una diversa gama de organismos, desde invertebrados, hasta mamíferos; estas similitudes sugieren la posibilidad de que los mecanismos bioquímicos que generan las oscilaciones circádicas en los mamíferos pueden compartir características comunes, con aquellos que se han encontrado en grupos filogenéticamente muy distantes. Estos hallazgos permiten suponer que si la malnutrición produce una reducción en el cerebro de la síntesis de proteínas originada por la reducción de aminoácidos esenciales, posiblemente existe una alteración del NSQ de los animales malnutridos que sean la que produzca en parte los cambios de fase que hemos encontrado a que quizá exista un desacoplamiento de osciladores que también contribuye a producir dicho efecto.

El análisis estadístico de la potencia relativa de las bandas del ECoG: delta, theta L, theta R y actividad rápida en los animales malnutridos crónicos de 60 días de edad, mostró la mayoría de las diferencias significativas en la banda theta R a los 60 días al comparar el animal control y el malnutrido crónico durante la hora inicial y final de las fases de actividad y reposo. En la misma banda, los animales de 60 días con malnutrición prenatal y rehabilitación posnatal, mostraron incrementos significativos en la potencia relativa en varios de los días experimentales, comportamiento similar al observado en los malnutridos crónicos de la misma edad, lo cual sugiere que la alteración sobre la manifestación del ritmo theta es de origen prenatal y no logra revertirse por la rehabilitación nutricional posnatal.

Como se sabe el ritmo theta se genera en el hipocampo en las células piramidales del campo CA1, las cuales forman parte del denominado circuito trisináptico del hipocampo. En estudios en los que se utilizaron dietas de 6% y 8% de caseína (Díaz-Cintra y cols. 1991, y Cintra y cols. 1990) se analizaron las células granulares del giro dentado del hipocampo con la técnica de Golgi, y se encontraron reducciones significativas en el tamaño celular, en la densidad de espinas dendríticas y en las ramificaciones dendríticas distales en hipocampos de ratas malnutridas de 30, 90 y 220 días de edad. Las reducciones en las dendritas y en las espinas sinápticas se encontraron principalmente en los dos tercios externos de la capa molecular, lugar en donde se realiza el primer relevo sináptico del circuito trisináptico del hipocampo, el cual se considera como un sustrato importante en los procesos de aprendizaje y memoria.

En otro estudio morfológico (Díaz-Cintra y cols, 1994) se utilizó una malnutrición prenatal de 6% de caseína y una rehabilitación nutricional posnatal con dieta de 25% de caseína y se analizaron las células piramidales del campo CA3. Se encontraron reducciones significativas en el tamaño celular, en la longitud de las dendritas, así como en las ramificaciones de la dendrita apical en ratas malnutridas de 15 días, también se encontró una reducción significativa en la densidad de espinas sinápticas e incrementos significativos en el número de dendritas apicales de estos animales a los 90 y 220 días. Estos estudios también revelaron reducciones significativas en las dendritas basales en donde hacen sinapsis las fibras GABAérgicas y las fibras comisurales a los 15 y 220 días de edad lo cual podría contribuir a las deficiencias en la integridad funcional de CA3, dado que se ha sugerido que el CA3 juega un papel muy importante en la integración de la actividad intrínseca del hipocampo (Swanson y Cowan, 1977).

Al analizar las células piramidales del CA1 con técnicas morfométricas después de la tinción de Golgi en animales malnutridos durante la gestación y la

lactancia y rehabilitados desde el nacimiento, se encontraron reducciones significativas en el soma a los 220 días, en la longitud de la dendrita apical a los 30 y 220 días, en el grosor del *stratum radiatum* y el *lacunosum moleculare* a los 30 y 220 días de edad; también se encontraron reducciones significativas en la densidad de las espinas sinápticas localizadas en el *stratum moleculare* a los 15, 30 y 220 días y en el segmento medial a los 90 y 220 días. Sin embargo el número de espinas dendríticas del *stratum radiatum* presentaron un aumento significativo a los 30 días de edad.

Estos hallazgos a nivel histológico en el circuito trisináptico del hipocampo muestran los efectos que produce la malnutrición en diversas estructuras, lo que ayudaría a explicar los cambios electrofisiológicos en las bandas de frecuencia del electrocorticograma.

En el día basal el animal malnutrido presentó una mayor potencia relativa de la banda theta, la cual fue significativa en las 4 horas que se estudiaron. Esta potencia incrementada de manera significativa también se presentó en el día de privación y en los tres días de recuperación, con excepción de la fase de actividad del día; principalmente durante los cambios de iluminación a oscuridad. Este aumento de la potencia relativa, se puede considerar como un índice de inmadurez cerebral o bien como una de las alteraciones que produce la malnutrición pre y posnatal, ya que se ha encontrado que ratas macho normales de 23 días presentan mayor potencia relativa en la banda de sueño lento de 0.75 a 4.0 Hz en comparación con animales de 29 y 40 días (Alföldi y cols, 1990). En otro estudio Gramsbergen (1976) encontró en ratas que fueron desnutridas durante la gestación y la lactancia con una dieta normal que se redujo al 50% aproximadamente, de su consumo normal, en un estudio del desarrollo del ECoG durante los días posnatales 9 a 30, retrasos de 2 a 3 días en la adquisición de frecuencias lentas y rápidas y también reportó que en el análisis espectral

permanecieron anomalías hasta los 30 días. Los resultados del presente estudio muestran en el animal de 30 días anomalías en la actividad cortical producidas por la malnutrición crónica y prenatal que prevalecen hasta la edad de 60 días.

CONCLUSIONES.

La malnutrición crónica produce alteraciones en la manifestación fisiológica de los estados de vigilancia y la actividad eléctrica cerebral en ratas de 30 y 60 días de edad.

La malnutrición prenatal con rehabilitación nutricional posnatal amortigua las alteraciones producidas por la malnutrición crónica, pero no revierte sus efectos en la actividad eléctrica cerebral

Los hallazgos sugieren que las alteraciones en las síntesis de proteínas producidas por la dieta hipoproteínica sean responsables de los retrasos y avances de fase circádicos observados en los animales malnutridos crónicos y rehabilitados de 30 y 60 días de edad.

Los daños anatómicos en el hipocampo provocados por este modelo de malnutrición pueden ser los responsables de las alteraciones encontradas en las bandas de theta en los animales de 60 días.

Referencias Bibliográficas

- 1.- Amaral, D.G. y Witter, M.P. The three dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neurosci* 31:571-591, 1989.
- 2.- Alfvöldi, P., Tobler, I., y Borbély, A.A. Sleep regulation in rats during early development. *Am. J.Physiol.* 258;R634-R644, 1990.
- 3.- Ambrosini, M. V., Langella, M., Gironi-Carnevale, U. A., y Giuditta, A. The sequential hypothesis of sleep function. III. The structure of postacquisition sleep in learning and nonlearning rats. *Physiol Behav* 51(2):217-226,1992.
- 4.- Aserinsky, E., y Kleitman, N. Two types of ocular motility occurring in sleep. *J Appl Physiol* 8: 1-10,1955.
- 5.- Azzolin, I.R., Bernard, E.A., Trinidae, V.M.T., Gamallo, J.L.G., y Perry, M. Effects of protein malnutrition on glycoprotein, protein and lipid synthesis in the rat cerebellum during the period of brain growth spurt. *Ann Nutr Metab* 35:82-88,1991.
- 6.- Baghdoyan, H.A., Rodrigo-Angulo, M. L., McCarley, R.W. y Hobson, J. A. A neuroanatomical gradient in the pontine tegmentum for the cholinceptive induction of desynchronized sleep signs. *Brain Res* 414:245-261, 1987
- 7.- Barrett, D.E. y Frank, D.A. The effects of undernutrition on children's behavior. Gordon & Breach Science Pub., New York. pp. 107-147, 1987.
- 8.- Bedi, K. S. Early-life undernutrition causes deficits in rat dentate gyrus granule cell number. *Experientia* 47: 1073-1074,1991.
- 9.- Bedi, K. S., y Warren, M. A. Effects of nutrition on cortical development. En: A. Peters y E. G. Jones (Eds.), *Cerebral cortex. Development and maturation of cerebral cortex.* Plenum Press, New York, pp. 441-178, 1988.
- 10.- Bier, M.J., McCarley, R.W. REM-enhancing effects of the adrenergic antagonist idazoxan infused into the medial pontine reticular formation of the freely moving cat. *Brain Res* 634:333-338, 1994.
- 11.- Bland, B.H., Andersen, P., AND Ganes.T. Two generators of hippocampal theta activity in rabbits. *Brain Res.* 94:199-218, 1975.
- 12.- Borbély, A. A. Effects of light on sleep and activity rhythms. *Prog Neurobiol,* 10:1-31,1978.

- 13.- Borbély, A.A. Approaches to sleep regulation. En: S. Inque y AA Borbély (Comps.) Endogenous sleep substances and sleep regulation. Japan Scientific Society Press, Tokio, 1985, pp13-23.
- 14.- Borbély, A. A. The S-Deficiency Hypothesis of Depression and the Two-process Model of Sleep Regulation. *Pharmacopsychiat* 20: 23-29,1987.
- 15.- Borbély, A. A., Tobler, I., y Groos, G. Sleep homeostasis and the circadian sleep-wake rhythm. En: M. H. Chase y E. D. Weitzman (Eds.), *Sleep Disorders: Basic and clinical research*. Spectrum Publications, New York, pp. 227-243, 1983.
- 16.- Borbély, A. A., y Neuhaus, H. U. Circadian rhythm of sleep and motor activity in the rat during skeleton photoperiod, continuous darkness and continuous light. *J Comp Physiol* 128: 37-46,1978.
- 17.- Borbély, A. A., y Neuhaus, H. U. Sleep deprivation: effects on sleep and EEG in the rat. *J Comp Physiol* 133: 71-87,1979.
- 18.- Borbély, A.A., Tobler, I., y Hanagasioglu, M. Effect of sleep deprivation on sleep and EEG power spectra in the rat: *Behav. Brain Res.*, 14: 171-182. 1984.
- 19.- Bremer, F. Cerveau "isolé" et physiologie du sommeil. *C R Soc Biol (Paris)*. 118:1235-1241, 1935.
- 20.- Brock, J. y Prasad, C. Alteration in dendritic spine density in the rat brain associated with protein malnutrition. *Dev. Brain Res.* 66:266-269,1992.
- 21.- Bronzino, J.D., Austin, K.B., Siok, C.J., Cordova, C. y Morgane, P.J. Spectral analysis of neocortical and hippocampal EEG in the protein malnourished rats. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 55: 699-709. 1983.
- 22.- Bronzino, J.D., Siok, C.J., Austin, K., Austin-LaFrance, R. y Morgane P.J. Spectral analysis if the electroencephalogram in the developing rat. *Dev. Brain Res.*, 35: 257-267. 1987.
- 23.- Bronzino, J.D., Stisser, P., Forbes, W.B., Tracy, C., Resnick, O. y Morgane, P.J. Power spectral analysis of the EEG following protein malnutrition. *Brain Res. Bull.* 5:51-60, 1980.
- 24.- Buzsaki, G., Gratyan, E., Kellenyi, L., y Czopf, J., Dynamic phase-shifts between theta generators in the rat hippocampus. *Acta physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 53:41-45, 1979.

- 25.- Buzsaki, G. Hippocampal Sharp-waves: Their origin and significance. *Brain Res.* 398: 242, 252, 1986.
- 26.- Cavoy, A y Delacour, J. Le rythme thêta de SP comme indice de maturation cérébrale: étude chez le rat et le cobaye. *Physiol. Behav* 26:233-240, 1981.
- 27.- Cintra, L. y Díaz-Cintra Effects of protein malnutrition on raphe dorsal and Locus coeruleus nuclei and non-pyramidal cells in the visual cortex of the rat. *Rev. Chil Nutr.* 13(2):76-82, 1985.
- 28.- Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A. y Morgane, P. Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. Estud. Med. Biol., Méx.* 36:3-17, 1988.
- 29.- Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A., Kemper, T., y Morgane, P. J. Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in rats of three age groups. *Brain Res* 532: 271-277, 1990.
- 30.- Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Kemper, T. y Morgane P. J. Nucleus locus coeruleus: a morphometric Golgi study in rats at three age groups. *Brain Research* 247: 17-28, 1982.
- 31.- Cintra, L., Galván, A., Díaz-Cintra, S y Escobar, C. Protein malnutrition on suprachiasmatic nucleus cells in rats of three ages. *Bol. Estud. Med. Biol. Méx* 42:11-19, 1994.
- 32.- Coenen A.M.L. y Van Luitelaar, E.L.J.M. Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. *Physiol Behav* 35(4):501-504, 1985
- 33.- Cohen, N.J. y Eichenbaum, H. *Memory, Amnesia and the hippocampal system.* Caps. 4-7 MIT Press England, 1993
- 34.- Coons, S. Development of sleep and wakefulness during the first six months of life. En: C. Guilleminault (Ed.), *Sleep and its disorders in children.* Raven press, New York, pp. 17-27, 1987.
- 35.- Corsi-Cabrera, M., Ponce de León, M., Juárez, J., y Ramos, J. Effects of paradoxical sleep deprivation and stress in the waking EEG of the rat. *Physiol Behav* 55(6):1021-1027, 1994.
- 36.- Crick, F., y Mitchison, G. The function of dream sleep. *Nature* 3(4): 111-114, 1983.
- 37.- Curró Dossi, R. Paré D, Steriade M. Short-lasting nicotinic and long-lasting

- muscarinic depolarizing responses of thalamocortical neurons to stimulation of mesopontine cholinergic nuclei. *J. Neurophysiol* 65:393-406, 1991.
- 38.- Depoortere, H. y Granger, P. Differentiation of EEG sleep stages in the rat and the cat by automatic analysis. En: *Methods of Sleep Research*. H. Kubicki (Ed.), G. Fisher Pub., Stuttgart. pp. 37-45, 1985.
 - 39.- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Galván A., Aguilar, A. Kemper, T., y Morgane P. J. Effects of prenatal protein deprivation on the postnatal development of granule cell neurons in the fascia dentata. *J. Comp. Neurol.*, 310:356-364, 1991.
 - 40.- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane P. J. The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: a morphometric Golgi study in rats at three age groups. *Brain Res.*, 304:243-253, 1984.
 - 41.- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P.J. The nucleus raphe dorsalis: a morphological Golgi study in rats of three age-groups. *Brain Research*, 207: 1-16, 1981a.
 - 42.- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J. The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: a morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Research*, 221: 243-255, 1981b.
 - 43.- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Ortega, A., Kemper, T y Morgane P.J. Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex, in rats of the three age groups. *J. Comp. Neurol.* 292:117-126, 1990.
 - 44.- Díaz-Cintra, S., García-Ruiz, M., Corkidi, G. y Cintra, L. Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. *Brain Res* 662:117-126, 1994.
 - 45.- Dobbing, J. Early nutrition and later achievement. *Proc Nutr Soc* 49: 103-118, 1990.
 - 46.- Dobbing, J. Effects of experimental undernutrition on development of the nervous system. En: N. S. Scrimshaw y J. Gordon (Eds.), *Malnutrition, learning, and behavior*. MIT Press, Cambridge, 1968b.
 - 47.- Dobbing, J. Undernutrition and the developing brain. En: W. Himwich (Ed.), *Developmental Neurobiology*. CC Thomas, Springfield. pp. 241-261, 1970.
 - 48.- Dobbing, J. Vulnerable periods in developing brain. En: A. N. Davison y J.

- Dobbing (Eds.), *Applied Neurochemistry*. Blackwell, Oxford. pp. 287-316, 1968a.
- 49.- Dobbing, J. Vulnerable periods of brain development. En: *Lipids, Malnutrition and Developing Brain*. CIBA Foundation Symposium. Elsevier, Amsterdam. pp.9-29, 1972.
 - 50.- Dobbing, J., Hopewell, J. W., y Lynch, A. Vulnerability of developing brain. VII. Permanent deficit of neurons in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition. *Exp Neurol* 32: 439-447, 1971.
 - 51.- Dobbing, J., y Sands, S. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev* 3(1): 79-83, 1979.
 - 52.- Drucker-Colín, R. Endogenous sleep peptides. En: *Psychopharmacology of Sleep*. Wheatley, D. (Ed.) Raven Press, New York, pp 53-72, 1981.
 - 53.- Durán, P. Privación de sueño MOR en ratas normales y malnutridas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, 1993.
 - 54.- Faradji, H., Cespuglio, R., Valatx, J-L. y Jouvet, M. Effets du Jeûne sur le phénomènes Phasiques du sommeil Paradoxal de la Souris. *Physiol Behav*, 23:539-546, 1979.
 - 55.- Forbes, W. B., Tracy, C., Resnick, O., y Morgane, P. J. Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. *Brain Res Bull* 2(2): 131-135, 1977a.
 - 56.- Forbes, W.B., Tracy, C.A., Resnick, O., y Morgane P.J. Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Exp. Neurol*. 57:440-450, 1977b.
 - 57.- Fox, S. E. y Ranck, J.B. Localization and anatomical identification of theta and complex spike cells in dorsal hippocampal formation of rats. *Exp. Neurol*. 49:229-313, 1975.
 - 58.- Franken, P., Tobler, I., y Borbély, A. A. Sleep homeostasis in the rat: simulation of the time course of EEG slow-wave activity. *Neurosci Lett* 130: 141-144, 1991.
 - 59.- Galler, J., and Kanis, K. B. Animal models of malnutrition applied to brain research. En: *Current topics in nutrition and disease. Basic and clinical aspects of nutrition and brain development*. Alan R Liss, Inc, New York. pp. 57-73, 1987.

- 60.- Grahnstedt, S., y Ursin, R. Platform sleep deprivation affects deep slow wave sleep in addition to REM sleep. *Behav Brain Res* 18: 233-239,1985.
- 61.- Gramsbergen, A. EEG development in normal and undernourished rats. *Brain Res.* 105:287-308, 1976.
- 62.- Gramsbergen, A. The development of EEG in the rat. *Dev. Psychobiol* 9:501-515, 1976.
- 63.- Granados, L. Efecto de la malnutrición hipoproteínica prenatal sobre el desarrollo de las fibras musgosas de la formación hipocámpica. Tesis de Maestría. Proyecto de Maestría en Ciencias Fisiológicas, UACPyP-CCH, UNAM, 1995.
- 64.- Grasing, K., y Szeto, H. Diurnal variation in continuous measures of the rat EEG power spectra. *Physiol Behav* 51(2): 249-254,1992.
- 65.- Guevara, P. MA. Aplicación del Análisis de Correlación a la actividad Electroencefalográfica. TESIS DOCTORAL, UNAM, 1995.
- 66.- Halberg, F. Physiologic 24-hour periodicity in human being and mice, the lighting regimen and daily routine. En: R.B. Withrow (ed.) *Photoperiodicity and related phenomena in plants and animals.* Washington: AAAS., pp.803-878, 1959.
- 67.- Herbert, D.C., y Reiter, R.J. Influence of protein-calorie malnutrition on the circadian rhythm of pineal melatonin in the rat (41074). *Proc Soc Exp Biol Med* 166:360-363,1981.
- 68.- Herchkowitz, N. Brain development and nutrition. En: P. Evrard y A. Minkowski (Eds.), *Developmental neurobiology.* Nestlé Vevey/Raven Press Lt, New York, pp. 297-304, 1989.
- 69.- Hicks, R.A., Pettey, B., Okuda, A. y Thomsen, D., The effects of REM sleep deprivation and age on locomotor activity in rats. *Psychol Rec* 29:355-360, 1979.
- 70.- Hobson, A. J. Sleep Mechanisms and pathophysiology: Some clinical implications of the reciprocal interaction hypothesis of sleep cycle control. *Psychosom Med* 45(2): 123-140,1983.
- 71.- Hobson, J., McCarley, R. W. Sleep cycle oscillation: Reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 189:55-58, 1975.
- 72.- Horne, J. Why we sleep?. The functions of sleep in humans and other

mammals. Oxford University Press, Oxford, p. 319, 1988.

- 73.- Houdouin, F., Cespuglio, R., y Jouvét, M. Effects induced by the electrical stimulation of the nucleus Raphe dorsalis upon hypothalamic release of 5-hydroxyindole compounds and sleep parameters in the rat. *Brain Res* 565: 48-56, 1991.
- 74.- Ibuka, N y Kawamura, H. Analysis of sleep-wakefulness cycle in the rat suprachiasmatic nucleus lesion. *Brain Res* 96:76-81, 1975.
- 75.- Inouyé, S.-I.T. Takahashi, J.S. y Turek, F.W. Anisomycin, injected either peripherally or directly into suprachiasmatic nucleus (SCN), induces phase-shifts in the circadian rhythm of locomotor activity of hamsters. *Neurosci. Abstr.* 11:1139, 1985.
- 76.- Jones, BE y Yang, T.Z. The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anterograde and retrograde axonal transport in the rat. *J. Comp. Neurol.* 242:56-92, 1985.
- 77.- Jones, BE. Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neuroscience* 40(3):637-656, 1991.
- 78.- Jouvét, M. The regulation of paradoxical sleep by the hypothalamo-hypophysis. *Arch Ital Biol* 126: 259-274, 1988.
- 79.- Jouvét, M. The role of monoamine and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle *Ergebn. Physiol* 64:166-307, 1972.
- 80.- Jouvét-Mounier, D., Astic, L., y Lacote, D. Ontogenesis of the states of sleep in rat, cat, and guinea pig during the first postnatal month. *Dev Psychobiol* 2(4): 216-239, 1970.
- 81.- Jouvét-Mounier, D., y Astic, L. Etude de l'évolution du sommeil du raton au cours du premier mois post-natal. *C.R. Seances Soc. Biol. Fil.* 262:119-123, 1968.
- 82.- Kitajama, K., y Valatx, J.L. Instrumental and pharmacological paradoxical sleep deprivation in mice: strain differences. *Neuropharmacol* 19:522-535, 1970.
- 83.- Kovalzon, V.M. y Tsubulsky, V.L. REM sleep deprivation, stress and emotional behavior in rats. *Behav Brain Res* 14:235-245, 1984.
- 84.- Kretschmer, N. Nutritional influences on neurological development: A contemplative essay. En: P. Evrard y A. Minkowski (Eds.), *Developmental*

- neurobiology. Nestec LTD, Vevey/Raven Press LT, New York, pp. 261-286, 1989.
- 85.- Lancel, M., y Kerkhoff, G. A. Effects of repeated sleep deprivation in the dark-or-light-period on sleep in rats. *Physiol Behav* 45(2): 289-297, 1989.
 - 86.- Lathja, A., Banay-Schwartz, M., y Stella, Giuffrida A. M. Changes in brain protein metabolism with developmental and nutritional state. En: *Clinical aspects on nutrition and brain development*. Alan R Liss, Inc, New York, pp. 43-56, 1987.
 - 87.- Leung, L-W. S. Theta rhythm during REM sleep and waking: correlation between power, phase and frequency. *Electroencephal Clin Neurophysiol* 58:553-564, 1984.
 - 88.- Llinas, RR y Pare D Of dreaming and wakefulness. *Neuroscience*, 44:521-535, 1991.
 - 89.- Magni, J., Moruzzi, G., and Pompeiano, o. Synchronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. *Arch. Ital. Biol.* 99:33-39, 1961.
 - 90.- Mark, J., Heiner, L. Mandel, P., y Godin, Y. Norepinephrine turnover in brain and stress reaction in rats during paradoxical sleep deprivation. *Life Sci* 8:1085-1093, 1969.
 - 91.- Marti-Nicolovius, M., Portell-Cortes, I., y Morgado-Bernal, I. Intracranial self-stimulation after paradoxical sleep deprivation induced by the platform method in rats. *Physiol Behav* 33(2): 165-167, 1984.
 - 92.- McCarley RW, Nelson, JP, Hobson JA Ponto-geniculo-occipital (PGO) waves *Science* 201:269-272, 1978.
 - 93.- McCarley, R. W. Brainstem Cholinergic systems and models of REM sleep production. En: J. Montplaisir y R. Godbout (Eds.), *Sleep and Biological rhythms: Basic mechanisms and applications to psychiatry*. Oxford University Press, New York pp. 131-147, 1990.
 - 94.- McCarley, RW, y Hobson, JA Neuronal excitability modulation over the sleep cycle: a structural and mathematical model. *Science* 189:58-60, 1975.
 - 95.- McGinty, D.J., and Harper, R.M. Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats, *Brain Res* 101:569-575, 1976.

- 96.- Mendelson, W.E., Guthrie, R.D., Frederick, G., y Wyatt, R.J. The flower pot technique of rapid eye movement (REM) sleep deprivation. *Pharmacol Biochem Behav* 2:553-556, 1974.
- 97.- Mirmiram, M., Van den Poll, N.E., Corner, M.A., Van Oyen, H.G., y Boer, G.J. Suppression of active sleep by chronic treatment with chlorimipramine during early postnatal development: effects upon adult sleep and behavior in the rat. *Brain Res.*, 204:129-146, 1981.
- 98.- Mirmiram, M. Scholtens, J., Van den Poll, N.E., Uylings, H.B.M., Van der Gugten, J., y Boer, G.J. Effects of experimental suppression of Active (REM) sleep during early development upon adult brain and behavior in the rat. *Developmental Brain Research* 7:277-286, 1983.
- 99.- Mirmiram, M., y Kok, J. H. Circadian rhythms in early human development. *Early Hum Dev* 28: 121-128, 1991.
- 100.- Moore, R. Y. The circadian system and sleep-wake behavior. En: J. Montplaisir y R. Godbout (Eds.), *Sleep and Biological rhythms: Basic mechanisms and applications to psychiatry*. Oxford University Press, New York, pp. 3-10, 1990.
- 101.- Moore, R.Y. Development of the suprachiasmatic nucleus. En: Klein, D., Moore, R.Y., y Reppert, S.M. (Eds.) *Suprachiasmatic Nucleus. The mind's clock*. Oxford University Press, New York, pp391-404, 1991.
- 102.- Moore, R.Y. The suprachiasmatic nucleus and the circadian timing system. En: Zatz M. (Ed.) *Circadian Rhythms. Discussion in Neuroscience*. VIII(2-3):26-33, 1992.
- 103.- Morales, F.R. y Chase, M.H. Intracellular recording of lumbar motoneuron membrane potential during sleep and wakefulness. *Exp. Neurol.*, 62:821-827, 1978.
- 104.- Morden, B., Mitchell, G., y Dement, W. Selective REM sleep deprivation and compensatory phenomena in the rat. *Brain Res* 5: 339-349, 1967.
- 105.- Morgane, P. J., Austin-LaFrance, R. J., Bronzino, J. D., Tonkiss, J., y Galler, J. R. Malnutrition and the developing central nervous system. En: R. L. Isaacson y K. F. Jensen (Eds.), *The vulnerable brain and environmental risks. Malnutrition and Hazard assessment*. Plenum Press, New York. pp. 3-44, 1992.
- 106.- Morgane, P. J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., y Galler, J. R. Prenatal malnutrition and

- development of the brain. *Neurosci Biobehav Rev* 17: 91-128,1993.
- 107.- Morgane, P. J., Kemper, T., Cintra, L. y Díaz-Cintra, S., Out-of-phase development of dendritic spines in locus coeruleus and nucleus raphe dorsalis of three age groups. *Develop. Brain Research*, 4:487-490, 1982.
 - 108.- Morgane, P. J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, J., Hawrylewicz, E., y Resnick, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 2(3): 137-239,1978.
 - 109.- Morgane, P.J., Austin, K.B., Siok, C.S., LaFrance, R.J., Bronzino, J.D. Power spectral analysis of hippocampal and cortical EEG activity following severe prenatal protein malnutrition in the rat. *Dev Brain Res* 22:211-218, 1985.
 - 110.- Morrison, A.R. Paradoxical sleep and alet wakefulness: Variations on a theme. pp 95-127 En Chase, M.H. y Weitzeman, E.D. (Eds.) *Sleep disorders, Basic and Clinical Research*. New York, Spectrum, 1983.
 - 111.- Morrison, A.R. Paradoxical Sleep without atonia. *Arch Ital Biol* 126:275-289, 1988.
 - 112.- Moruzzi, G. The sleep-waking cycle. *Ergeb Physiol* 64:1-165,1972.
 - 113.- Moruzzi, G., y Magoun, H.W. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1:455-473, 1949.
 - 114.- Mouret, J., Pujol, J.F. y Kiyono, S. Paradoxical sleep rebound in the rats. Effects of physical procedures involved intracisternal injection. *Brain Res* 15:501-506, 1969.
 - 115.- Mouret, J., Coindet, J., y Chouvet, G. Effet de la pinéalectomie sur les états et rythmes de sommeil du rat mâle. *Brain Res* 81:97-105,1974.
 - 116.- Murison, R., Ursin, R., Coover, J.D. Lien, W. y Ursin, H. Sleep deprivation procedure produces stomach lesions in rats. *Physiol Behav* 29:693-694, 1982.
 - 117.- Nakamura, M., Nishida, S., Neshige, R. y Shibaki, H. Quantitative analysis of "organization" by feature extraction of the EEG power Spectrum. *Electroencephal Clin Neurophys* 60:84-89, 1985.
 - 118.- Nauta, W. Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. *J. Neurophysiol.* 9:285-316, 1946.

- 119.- Parks, J.M., Ames, A., III, y Nesbett, F.B. Protein synthesis in central nervous tissue: studies on *in vitro* retina. *J. Neurochem.* 27:987-997,1976.
- 120.- Paula-Barbosa, M.M., Andrade, JP, Castedo, JL, Azevedo, FP, Comoes, I., Voght, B y Tavares, MA. Cell loss in the cerebellum and hippocampal formation in adult rats after long-term low protein diet. *Exp Neuro.*, 103:186-193, 1989.
- 121.- Prospéro, O, Jiménez, A,y Drucker-Colín, R. Factores Inductores del Sueño. En: Buela-Casal, G. y Navarro. F. (Eds). *Avances en la investigación del Sueño y sus Trastornos. Siglo XXI, España* pp105-126, 1991.
- 122.- Prosser, R.A.,Heller, H.C.,Miller, J.D.Serotonergic phase shifts of the mammalian circadian clock: effects of tetrodotoxin and high Mg^{2+} . *Brain Res* 573:336-340,1992.
- 123.- Rainbow, T.C., Davis, P.G. y McEwen, B.S. Anisomycin inhibits the activation of sexual behavior of estradiol and progesterone. *Brain Res.* 194:548-555, 1980.
- 124.- Ranck, J.B. Studies of single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. I. Behavioral correlates and firing repertoires. *Exp. Neurol.*, 42:461-531, 1973.
- 125.- Rapp, P. E. Why are so many biological systems periodic?. *Prog Neurobiol* 29: 261-273,1987.
- 126.- Resnick, O.,Morgane, P.J.,Hasson, R., y Miller, M. Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neurosc Biobehav Rev* 6:55-75,1982.
- 127.- Rodier, P. M. Chronology of neuron development: Animal studies y their clinical implications. *Dev Med Child Neurol* 22: 525-545,1980.
- 128.- Roffwarg, H. P., Muzio, J. N., y Dement, W. C. Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle. *Science* 152: 604-619,1966.
- 129.- Rusak, B., y Zucker, I. Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol Rev* 59: 449-526,1979.
- 130.- Sakai, K. Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. En D. McGinty et al (eds.) *Brain Mechanisms of sleep.* Raven Press NY, pp 111-137, 1985.

- 131.- Sakai, K., El Mansari, M., Lin, J.S., Zhang, J.G., y Vanni-Mercier, G. The posterior hypothalamus in the regulation of wakefulness and paradoxical sleep. En: M. Mancina and G Marini (eds.) *The Diencephalon and Sleep*. Raven Press, Ltd., New York, 1990.
- 132.- Sakai, K., Sastre, J., Salvat, D., Touret, M., Tohyama, M., y Jouvet, M. Tegmentoreticular projections with special reference to the muscular atonia during paradoxical sleep in the cat. *Brain Res.* 176: 233-254, 1979.
- 133.- Sakai, K. Some anatomical and physiological properties of pontomesencephalic tegmental neurons with special reference to PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. Pp 427-477. En: Hobson, J.A., and Brazier, M.A.B. (eds). *The Reticular Formation Revisited*. Raven Press, New York, 1980.
- 134.- Salas, M., Díaz, S. y Nieto, A. Effect of neonatal food deprivation on cortical and dendritic development of the rat. *Brain Res* 73:139-144, 1974.
- 135.- Salas, M., y Cintra, L. Development of the Electrocorticogram during starvation in the rat. *Physiol Behav* 14:589-593, 1975.
- 136.- Sarper, C., y Loewy, A. Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res.* 197:291-246, 1980.
- 137.- Schandry, R. Origins of the main human biosignals. En: Weitkunat, R. (ed.). *Digital biosignal Processing*, pp. 3-35, 1991.
- 138.- Shapiro, S. Maturation of the neuroendocrine response to stress in the rat. En: *Early experience and behavior: the psychobiology of development*. Springfield: Thomas, pp 198-237, 1968.
- 139.- Shiromani, P. J., Kilduff, T. S., Bloom, F. E., y McCarley, R. W. Cholinergically induced REM sleep triggers fos-like immunoreactivity in dorsolateral pontine regions associated with REM sleep. *Brain Res* 580: 351- 357, 1992.
- 140.- Skinner, R. D., y Garcia-Rill, E. Brainstem modulation of rhythmic functions and behaviors. En: W. R. Klemm y R. P. Vertes (Eds.), *Brainstem mechanisms of behavior*. John Wiley & Sons, Inc, New York, pp. 465-496, 1990.
- 141.- Smart, J. L. Critical periods in brain development. En: *The childhood environment and the adult disease*. Wiley, Chichester, pp. 109-128, 1991.
- 142.- Smart, J. L., y Bedi, K. S. Early life undernutrition in rats. *Br J Nutr* 47: 439-

- 444,1982.
- 143.- Steinfels, G.F., Young, G.A., y Khazan, N. diurnal variation in REM and NREM slepp EEG power spectra in the rat. *Brain Res*, 181:425-432, 1980.
 - 144.- Steriade M, y Hobson JA. Neuronal activity during sleep-waking cycle. *Prog. Neurobiol* 6:155-376, 1976.
 - 145.- Steriade, M., Basic mechanisms of sleep generation. *Neurology*, 42(suppl. 6):9-18, 1992.
 - 146.- Steriade, M., Domich, L., y Oakson, G. The deafferent reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. *J. Neurophysiol.* 57:260-173, 1987.
 - 147.- Steriade, M., y McCarley, R. W. *Brainstem Control of Wakefulness and Sleep.*, Plenum Press New York, 1990.
 - 148.- Stern, W.C., Forbes, W.B., Resnick, O., y Morgane, P.J. Seizure susceptibility and brain amine levels following protein malnutrition during development in the rat. *Brain Res* 79:375-384, 1974.
 - 149.- Stern, W.C., Miller, M., Forbes, W.B., Leahy, J.P., Morgane, P.J., y Resnick, O. Effects of protein malnutrition during development on protein synthesis in brain and peripheral tissues. *Brain Res Bull* 1:27-31, 1976.
 - 150.- Sternthal, H. S., y Webb, W. B. Sleep deprivation of rats by punitive and non punitive procedures. *Physiol Behav* 37(2): 249-252, 1986.
 - 151.- Stupfel, M., y Pavely, A. Ultradian, circahoral and circadian structures in endothermic vertebrates and humans. *Com Biochem Physiol* 96a(1): 1-11, 1990.
 - 152.- Swanson, L.W. y Cowan, W.M. Autoradiographic studies of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J.Comp. Neurol.* 172:49-84, 1977.
 - 153.- Szymusiak, R. Danowski, J. y McGinty, D. REM sleep-suppressing effects of atropine in cats vary with environmental temperature. *Brain Res* 636:115-118, 1994.
 - 154.- Szymusiak, R., y McGinty, D. Sleep-waking discharge of basal forebrain projection neurons in cats. *Brain Res. Bull.* 22:423-430, 1989.
 - 155.- Takahashi, J.S., y Turek, F.W. Anisomycin, and inhibitor of protein synthesis, perturbs the phase of a mammalian circadian pacemaker. *Brain*

Res 405:199-203,1987.

- 156.- Takahashi, J.S., y Zatz, M. Regulation of circadian rhythmicity. *Science*, 217:1104-1111, 1982.
- 157.- Thakkar, M., y Mallick, B. N. Effect of REM sleep deprivation on rat brain acetylcholinesterase. *Pharmacol Biochem Behav* 39(1): 211-214,1991.
- 158.- Timo-laria, C., Negro, N., Schmidek, K., Hoshino, K., DeMenezes, C. E. L., y DaRocha, T. L. Phases and states of sleep in the rat. *Physiol Behav* 5(9):1057-1062,1970.
- 159.- Trachsel, L., Tobler, I., Achermann, P., y Borbély, A. A. Sleep continuity and the REM-NON-REM cycle in the rat under baseline conditions and after sleep deprivation. *Physiol Behav* 49(3): 575-580,1991.
- 160.- Trachsel, L., Tobler, I., y Borbély, A. A. Sleep regulation in rats: effects of sleep deprivation, light, and circadian phase. *Am J Physiol* 251: R1037-R1044,1986.
- 161.- Turek, F.W. Circadian neural rhythms in mammals. *Ann Rev Physiol* 47:49-64,1985.
- 162.- Van Luijckelaar, E. L. J. M., y Coenen, A. M. L. Electrophysiological evaluation of three paradoxical sleep deprivation techniques in rats. *Physiol Behav* 36(4): 603-609,1986.
- 163.- Venero, J. L., Herrera, A. J., Machado, A., y Cano, J. Changes in neurotransmitter levels associated with the deficiency of some essential amino acids in the diet. *Br J Nutr* 68: 409-420,1992.
- 164.- Vertes, R. P. A life sustaining function for REM sleep: A theory. *Biobehav Rev* 10(4): 371-376,1986.
- 165.- Vertes, R. P. Brainstem mechanisms of slow-wave sleep and REM sleep. En: W.R. Klemm y R. P. Vertes (Eds.), *Brainstem mechanisms of behavior*. John Wiley & Sons, Inc, New York, pp. 535-583, 1990.
- 166.- Wehr, T. A. A brain-warming function for REM sleep. *Neurosci Biobehav Rev* 16: 379-397,1992.
- 167.- West, CD y Kemper, TL The effect of low protein diet on the anatomical development of the rat brain. *Brain Res*, 107:321-237, 1976.
- 168.- Winson, J. Patterns of hippocampal rhythm in the freely moving rat.

Electroenceph Clin Neurophysiol 36:291-301, 1974.

- 169.- Yamaoka, S. Participation of limbic-hypothalamic structures in circadian rhythm of slow wake sleep and paradoxical sleep in the rat. Brain Res 151: 255-268,1978.
- 170.- Yokogoshi, H., Hayase, K., y Yoshida, A. The quality and quantity of dietary protein affect brain protein synthesis in rats. J Nutr 122: 2210-2217,1992.
- 171.- Zamenhof, S., y van Marthens, E. Distribution of nutrients between fetal brain and body during rat development. Biol Neonate 41:68-73,1982.