

11261

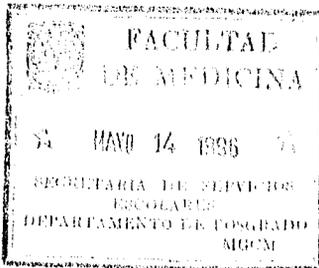
18  
24



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

EFFECTO DE LA DESNUTRICION PROTEICA  
SOBRE EL RITMO DE INGESTA DE AGUA  
EN RATA



T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS  
BIOMEDICAS FISILOGIA

P R E S E N T A :  
ALBERTO SALAZAR JUAREZ



DIRECTOR DE TESIS: DR. RAUL AGUILAR ROBLEDO

MEXICO D. F.

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

A mis padres: Ma. del Rosario y Carlos  
por el apoyo que me brindaron y sobre  
todo por entender siempre lo importante  
que era para mí el poder lograr esta meta.

A mi hermano Carlos: por que tal vez sin su  
ejemplo yo no hubiera iniciado y terminado  
ésta etapa.

A mi abuelita Victoria: por sus  
consejos y su cariño de todos  
éstos años.

A ti Sandra:

Por que nunca detuviste mi camino en ésta aventura  
por que siempre estuviste ahi para impulsarme  
por que tuviste la paciencia necesaria, pero sobre todo  
por haber querido ser parte de mi vida,por siempre  
gracias TANA.

**MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO A MIS SINODALES:**

**Dr. Raúl Aguilar Roblero.  
Dr. Leon Cintra McGlone.  
Dra. Ma. Luisa Fanjul de Moles.  
Dra. Carolina Escobar.  
Dr. Manuel Salas**

**Por las criticas y comentarios realizados a este trabajo.**

**Mi agradecimiento muy especial a la Dra. Ma. Luisa Fanjul de Moles,  
al Dr. Leon Cintra y a la Dra. Sofía Díaz de Cintra por el apoyo y los  
consejos que me han dado a lo largo de todos estos años de trabajo.**

**Al Dr. Raúl Aguilar Roblero por la paciencia y las enseñanzas vertidas  
todo éste tiempo.**

**MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO A MIS SINODALES:**

Dr. Raúl Aguilar Roblero.  
Dr. Leon Cintra McGlone.  
Dra. Ma. Luisa Fanjul de Moles.  
Dra. Carolina Escobar.  
Dr. Manuel Salas

Por las criticas y comentarios realizados a este trabajo.

Mi agradecimiento muy especial a la Dra. Ma. Luisa Fanjul de Moles, al Dr. Leon Cintra y a la Dra. Sofía Díaz de Cintra por el apoyo y los consejos que me han dado a lo largo de todos estos años de trabajo.

Al Dr. Raúl Aguilar Roblero por la paciencia y las enseñanzas vertidas todo éste tiempo.

**A mis compañeros de laboratorio, con los cuales he pasado infinidad de aventuras y experiencias.**

**A mis primos y amigos para que ésto los motive a seguir adelante.**

**Agradezco las facilidades otorgadas por el "Instituto de Fisiología Celular" para la realización de esta tesis.**

**Agradezco a los proyectos de DGAPA IN202891 e IN200794 por el apoyo al trabajo.**

**Agradezco al CONACyT por la beca que me fue otorgada para la realización de la maestría.**

# INDICE

<b>1) INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1- GENERALIDADES</b> .....	<b>1-3</b>
<b>1.2- DESNUTRICIÓN</b> .....	<b>5-17</b>
1.21 Periodo vulnerable .....	5-6
1.22 Aspectos morfológicos .....	6-12
1.23 Aspectos metabólicos .....	12-15
1.24 Aspectos conductuales .....	15-16
<b>1.3- RITMOS CIRCADICOS</b> .....	<b>17-31</b>
1.31 Endogeneidad .....	18-21
1.32 Sincronización .....	21-26
1.33 Sistema circádico .....	26-31
<b>1.4- ANTECEDENTES ESPECÍFICOS</b> ...	<b>32-33</b>
<b>2) OBJETIVOS</b> .....	<b>34</b>
<b>3) MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	<b>35-40</b>
<b>4) RESULTADOS</b> .....	<b>41-53</b>
4.1 Experimento 1 .....	41-46
4.2 Experimento 2 .....	47-48
4.3 Experimento 3 .....	49-50
4.4 Experimento 4 .....	51-52
<b>5) DISCUSIÓN</b> .....	<b>53-62</b>
<b>6) CONCLUSIONES</b> .....	<b>63</b>
<b>7) BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>64-82</b>



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

En los últimos años, el estudio de la ontogenia cerebral ha permitido un mejor conocimiento acerca de la secuencia de cambios que ocurren en la estructura y composición bioquímica del sistema nervioso durante sus diferentes etapas, las cuales determinan las distintas propiedades funcionales del tejido neural durante cada fase del desarrollo. Estos cambios están determinados tanto por programas establecidos genéticamente como por influencias ambientales que actúan sobre el sistema nervioso. De esta manera el desarrollo sigue un patrón específico, en el cual aquellas partes del sistema nervioso central (SNC) que en el momento del nacimiento son necesarias para el control de funciones esenciales maduran más rápido que otras (Salas, 1978).

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

La desnutrición, como resultado de una deficiente ingestión en calidad y cantidad de alimento, es el factor ambiental que más frecuentemente afecta el desarrollo cerebral. En la rata se ha encontrado que la desnutrición perinatal severa o moderada produce daños cerebrales irreversibles (Dobbing, 1972) que están asociados con diferentes grados de alteraciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas del SNC. Además existe evidencia de que la desnutrición más severa en los humanos es la que ocurre durante los dos primeros años de vida, que tiene como consecuencia una disminución del desarrollo cerebral; siendo los efectos físicos más obvios en la talla y en el peso corporal aunque también se afectan en diversos grados algunos órganos de la economía. Es así como se observa una disminución del peso de algunos órganos internos como el hígado, el riñón, la hipófisis, las suprarrenales, los ovarios, los testículos y las vesículas seminales ( Donald, 1981).

Al hablar de la desnutrición generalmente se hace referencia a un estado alterado de las funciones orgánicas producidos por una reducción importante de la ingestión de nutrimentos que a su vez reducen el aporte calórico. La malnutrición (disminución o incremento en la cantidad en uno o varios componentes de la dieta) proteínica prenatal afecta el desarrollo cerebral de diferentes maneras dependiendo del momento en el que se padezca, de su relación temporal con los eventos del desarrollo cerebral y al tipo y severidad de la deprivación. Los efectos de ésta son permanentes pero pueden aminorarse con la exposición del sujeto a diferentes estímulos y a ambientes enriquecidos. La desnutrición y la malnutrición ejercen su efecto durante el periodo de desarrollo, no solo durante el llamado periodo de crecimiento cerebral, sino también durante los procesos de organización temprana propios de este periodo, como la neurogénesis, la migración celular y la diferenciación (Morgane y cols., 1993).

Es evidente que el estudio experimental sistemático de los efectos tanto de la desnutrición prenatal como de la desnutrición posnatal o de ambas, no es posible efectuarlo en el ser humano, por lo cual ha sido necesario diseñar modelos de desnutrición experimental en animales. Dentro de estos modelos destaca el uso de la rata de laboratorio ya que ésta ofrece grandes ventajas prácticas y a la vez permite establecer conclusiones valiosas debido a la analogía que presenta su desarrollo cerebral con el del humano (Cintra y Galván, 1991) Debido a la relativa complejidad y gran vulnerabilidad de los circuitos neuronales durante el periodo cercano al parto permite al investigador contar con un modelo experimental singular, donde es posible evaluar los cambios funcionales normales y las alteraciones que ocurren cuando se modifica el proceso de maduración bajo la acción de una influencia nociva del ambiente (Salas, 1978). Experimentalmente la privación de nutrimentos en el feto o en

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

El paradigma de la malnutrición hipoproteínica, en general simula las condiciones bajo las cuales las poblaciones humanas desnutridas se desarrollan, esto es: 1) La restricción proteínica en la dieta es crónica y se origina previa a la concepción de la generación subsecuente; 2) Es deficiente en calorías, las dietas bajas en proteínas se compensan con un exceso de carbohidratos; 3) La dieta baja en proteína y la dieta control tienen un alto contenido de grasa y 4) La manipulación dietaria crónica va más allá del periodo de amamantamiento; estas características principales de la desnutrición humana varían de situación a situación, sin embargo el procedimiento experimental que se emplea se aproxima a estas condiciones en muchos aspectos. La ventaja de este modelo, es que se pueden reducir uno o varios nutrimentos y simultáneamente estudiar su efecto a corto o largo plazo en el SNC.



Dobbing (1970) planteó la existencia de un periodo único en el crecimiento cerebral en el que este órgano experimenta procesos fundamentales de su desarrollo, por lo que es especialmente sensible a las restricciones nutricionales y a otros tipos de estímulos agresivos que ocasionarían secuelas físicas y conductuales permanentes (Dobbing y Sands, 1971), a este periodo se le denominó "Periodo Vulnerable"

Esta vulnerabilidad del SNC no es constante a través del desarrollo, ya que los diferentes procesos del crecimiento son heterocrónicos o sea, varían temporalmente dependiendo del área de la que se trate. El periodo vulnerable se inicia en una etapa en la que se está completando el proceso de multiplicación celular, de modo que el insulto nutricional solo afectaría en pequeño grado el número final de neuronas. (Dobbing y Smart, 1974).

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

En forma análoga a lo descrito anteriormente, el periodo vulnerable es también diferente para cada especie, ya que en cada una la ontogenia neural sigue un patrón temporal específico. En la rata abarca las tres primeras semanas posnatales mientras que en el hombre se extiende desde el final del primer semestre de gestación hasta los dos años de vida posnatal (Dobbing y Sands, 1971, Dobbing y Smart, 1973), sin embargo en ambos se dan procesos equivalentes, como la lactancia.



El insulto nutricional distorsiona el programa original de desarrollo del SNC y ocasiona relaciones distorsionadas entre las neuronas y la glia, una pobre formación de circuitos neuronales y alteraciones de los eventos regresivos normales, incluyendo la muerte celular y el recorte axonal y dendrítico, resultando en patrones modificados de organización cerebral. También ocasiona desviaciones de la secuencia normal relacionada a la maduración cerebral, afecta de manera particular el desarrollo de varios tipos celulares y su actividad neurotransmisora (Morgane y Cols., 1993); ocasiona un retraso en la migración celular y en la síntesis de mielina (Winick, 1970), así como alteraciones en las vías del metabolismo de la glucosa (Lewis y Col, 1975); lo que se ve más afectado es el empaquetamiento de las neuronas y el crecimiento de los procesos neuronales, los cuales faltan o son limitados en extensión.

Estudios morfológicos han demostrado que la privación de alimento en la rata induce una reducción del volumen cerebral (Stewart, 1971), principalmente por una disminución del árbol dendrítico, (Patel, 1983). Todo lo anterior disminuye la capacidad de establecer nuevas interconexiones y reduce la posibilidad de fenómenos de plasticidad. También se ha observado una orientación aberrante en axones de neuronas corticales (Salas y Cols, 1974).

Las células gliales también se afectan por la desnutrición y la malnutrición, lo cual se manifiesta por una reducción del 50% en su número, así como alteraciones en su maduración observables en cambios en el contenido de DNA, RNA y proteínas específicas de dichas células (Robain y Ponsot, 1978). De manera similar la desnutrición ocasiona trastornos en el depósito de mielina en el SNC ocasionados por el retraso en la migración de oligodendrocitos.

Lo anterior se manifiesta como una reducción en el número y espesor de las capas de mielina en el SNC y Sistema Nervioso Periférico (SNP), así como la composición química de la mielina (Wiggins y Col, 1976).

Otros efectos ocasionados por la desnutrición son presentados en la tabla I.

TABLA I -- Efectos de la desnutrición y malnutrición sobre estructuras cerebrales

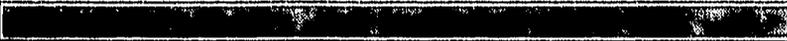
Los diferentes métodos usados para producir animales desnutridos son codificados como sigue: 1) Animales que fueron desnutridos por medio de una dieta usada después de que la madre amamantó a sus crías. 2) Animales separados de la madre lactante por largos periodos de tiempo. 3) Animales colocados en camadas de 16 ó más sujetos por madre. 4) Desnutrición prenatal ocasionada por la reducción del contenido proteico o dieta total de la madre durante la gestación. 5) El tamaño de la camada se mantuvo constante pero la madre lactante se alimentaba con una dieta baja en proteína lo cual inducía una baja producción de leche. 6) Similar a la 5 solo que a la madre se le restringía el alimento.

Características	Especie	Método de desnutrición	Referencia
Reducción del tamaño y peso cerebral	Rata	1y 2	Hatai (1904) Jackson y Stewart (1920)
La velocidad mitótica es más lenta así como la velocidad de muerte neuronal.	Rata	6	Patel y Cols. (1973)

Disminución del volumen de la corteza cerebral, el crecimiento del tamaño neuronal fue retrasado así como su mielinización, pero el número total de neuronas no se vio afectado	Rata	2,3,6	Sugita ( 1918 ); Bedi ( 1987, 1988, 1994)
No se presenta degeneración nerviosa en la corteza cerebral, la densidad celular aumenta	Rata	2	Eayrs y Horn (1955)
Pérdida de neuronas multipolares	Rata	4	Shrader y Zeman ( 1969)
Reducción del número de células gliales en la corteza neuronal	Rata	4-3	Siassi y Siassi (1973)
Decremento en la densidad y grosor dendrítico, de espinas sinápticas en neuronas corticales de la capa V y de las espinas en dendritas horizontales y basales de células piramidales de la capa IIIb de la corteza visual.	Rata	2 y 4	Salas y Cols. (1973), Diaz-Cintra y Cols (1990)
Decremento del espesor de la corteza visual, resultando en un decremento del largo y grosor de las dendritas apicales y basales.	Rata	3-1	Cordero y Cols (1973 )
Reducción del número de sinápsis por neurona en la corteza visual.	Rata	4	Warren y Bedi (1982); Bedi y Cols (1988)

Reducción del peso del cerebelo	Rata	4	Peeling y Smart (1991)
Adelgazamiento de la capa molecular y la capa granular externa retrasa su tiempo de maduración.	Rata	6	Lewis y Cols (1975); Yucel y Cols (1994)
Las células contienen menos citoplasma, capas de mielina delgadas y desarrollo dendrítico reducido	Rata	5	Stewart y Cols. (1971)
Reducción del número de células en la capa granular externa e interna del cerebelo.	Rata	6	Barnes y Altman (1973)
Déficit de 21% de células de purkinje y 31% de células granulares.	Rata	3 y 6	Dobbing y Cols. (1971), Barnes y Altman (1973)
Decremento del tamaño del soma y del árbol dendrítico apical en células de Purkinje, estrelladas y de canasta.	Rata	6 y 3	Yucel y Cols. (1994), Sima y Persson (1975)
Reducción del índice sinápsis-neurona.	Rata	4	Bedi y Cols. (1991)
Decremento de procesos gliales en la capa molecular.	Rata	2	Clos y Cols. (1973)
Decremento de la densidad de espinas sinápticas y el largo de las dendritas, en células del Neocstriado, corteza entorrinal, septum medial y N. de la banda diagonal de Broca.	Rata	4	Kemper y Cols. (1978); Brock y Prasad (1992)

Las células multipolares del Rafe dorsalis incrementan sus aferentes	Rata	4	Díaz y Cols. (1981)
Disminución de la densidad de espinas dendríticas.	Rata	4	Díaz y Cols (1984)
Disminución del número de células del hipocampo.	Rata	4	Lewis y Cols. (1975); Bedi (1991)
En el giro dentado se presenta una reducción del tamaño celular y de las espinas dendríticas.	Rata	4	Cintra y Cols. (1990); Díaz-Cintra y Cols. (1991).
Decremento del tamaño del soma, del largo y densidad de las dendritas y sus espinas en las células piramidales de CA3 y de la fascia dentada.	Rata	4	Díaz-Cintra y Cols. (1994); Garcia-Ruiz y Cols (1993)



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

La desnutrición afecta el procesamiento postranscripcional del transcritto de los genes específicos para las proteínas mielínicas, la cantidad de RNAm específicos a la mielina se decrecientan en aproximadamente un 40% (Royland y Cols., 1992) en la etapa en que la privación alimenticia altera irreversiblemente la diferenciación de los oligodendrocitos (Royland y Cols., 1993)

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

Sin embargo en ratas desnutridas se incrementa la concentración de alanina y de taurina en el cerebelo, corteza cerebral e hipocampo, además la GAD presenta niveles significativamente bajos en todas las regiones (Chavez y cols., 1993).

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

Respecto al efecto de la desnutrición sobre la concentración de algunos neurotransmisores y sus metabolitos en las diferentes áreas cerebrales los resultados

indican que se encuentran elevados los niveles de fenilalanina, triptófano, norepinefrina, serotonina y Ac.5-hidroxiindolacético (Resnick, 1988; Díaz y Cols., 1993) en la corteza cerebral e hipotálamo. Por otra parte los niveles de dopamina se encuentran disminuidos (Shoemaker y Wurtman, 1971). En análisis de regiones específicas del cerebro se encontró que los neurotransmisores están altamente concentrados en estructuras subtelencefálicas como el diencéfalo, mesencéfalo, puente-médula y tejido periférico, siendo el tallo cerebral el área que presenta la mayor concentración (tabla II). sin embargo la concentración de norepinefrina no mostró cambios en tejido periférico de ratas desnutridas, lo cual sugiere que el cerebro es más sensible al efecto de la desnutrición que el tejido periférico. A pesar de que la dieta es deficiente en aminoácidos precursores de los neurotransmisores y que en algunos casos se ven afectadas las enzimas de síntesis de los mismos (Shoemaker y Bloom, 1977).

El incremento de algunos neurotransmisores monoaminérgicos en tejido periférico (pulmón, corazón, estómago) sugiere que estos cambios representan una alteración general en el metabolismo, ya que las modificaciones observadas en el cerebro no son muy diferentes de las que se observan en los órganos periféricos (Morgane y Col, 1979), además, es posible que la alteración en los perfiles neuroquímicos conlleve a alteraciones en algunos patrones conductuales (Stern y Col, 1975; Miller y Col, 1977; Shoemaker y Wurtman, 1971).

Parece ser que las funciones reproductoras y placentarias de las ratas malnutridas no se afectan de manera significativa por la malnutrición proteínica, ya que la malnutrición causa un incremento en el peso placentario pero no afecta el crecimiento fetal (McCrabb y Cols., 1991), sin embargo el feto es dañado por la malnutrición proteínica, debido al pobre acceso que tiene a las reservas proteínicas disponibles de la madre, además se presenta un decremento en el porcentaje de transferencia de aminoácidos de la sangre materna al feto; durante la lactancia la

disponibilidad de proteína al infante está alterada, ya que el contenido de proteína en la leche es afectado por cambios en la dieta, y la cantidad de leche producida por las madres desnutridas es reducida por lo que la disponibilidad de proteína total es baja para los hijos de madres desnutridas.

T A B L A II -- Efectos de la desnutrición sobre algunas sustancias neuroactivas.

Disminución de la actividad de acetilcolinesterasa y del contenido y concentración de NE y 5-HT.	Rata	3	Sereni y Cols (1966)
Elevación de la concentración de NE y 5-HT en algunas regiones cerebrales pero el contenido cerebral total esta disminuido.	Rata	4-5	Stern y Cols (1975)
Disminución del 25% de la NE pero los niveles de Tirosina hidroxilasa se incrementaron.	Rata	5	Shoemaker y Wurtman (1971)
Disminución de los niveles de dopamina, principalmente en los ganglios basales.	Ratón	5	Lee y Dubos (1972); Schoemaker y Wurtman (1973)
Disminución de la actividad de la glutamato deshidrogenasa y la glutamato descarboxilasa.	Rata	3	Rajalakshmi y Cols (1974)
Incremento de la histamina cerebral.	Rata y Cobayo	1	Enwonwu y Worthington (1974)



La privación perinatal de alimento retrasa el desarrollo de los componentes reflejos de la conducta. Por ejemplo el desarrollo del patrón de nado usado como un modelo de maduración del SNC sufre un retraso de 2-3 días en su desarrollo, este patrón parece estar afectado debido a alteraciones en el desarrollo de las estructuras que intervienen en la integración refleja de dicha conducta tales como la corteza motora, cerebelo y núcleo vestibular (Salas, 1972); también, las ratas desnutridas abren los ojos de manera retrasada, estas pierden la capacidad de poder orientar en el espacio adecuadamente al nido, a los 9-11 días de nacido, por lo que la desnutrición prenatal altera el desarrollo de las respuestas relacionadas al (hogar) nicho espacial (Galler y Cols., 1994);

La desnutrición neonatal aumenta importantemente la actividad exploratoria en la edad adulta y este efecto es aun más severo cuando además de la desnutrición los sujetos se privan de información sensorial (Levitsky y Barnes, 1972). Además la desnutrición neonatal altera la respuesta emocional de los animales hacia los estímulos ambientales en la edad adulta debido posiblemente al daño a estructuras límbicas como el hipotálamo, la amígdala y el hipocampo, las cuales participan en el control de este tipo de respuesta (Salas, 1978).

De este modo, las conductas maternas son afectadas por la desnutrición proteínica prenatal, se presenta un déficit en los cuidados maternos a la cría al nacer, los cuales consisten en una reducción de la cantidad de cuidados otorgados en el nido, en el tiempo de lactancia y las madres exhiben una conducta de aseo y movimientos circulares exagerados (Salas y Cols., 1984)

Con respecto al patrón de aseo, éste se ve afectado, en los sujetos desnutridos el tiempo de aseo por parte de la madre es más alto comparado con sujetos control (Galler y Tonkiss, 1991), un efecto similar se presenta con la conducta de autolimpieza (Salas y Cols., 1991). Además la desnutrición proteica causa alteraciones a largo plazo en los sistemas cerebrales que regulan las conductas emocionales, ya que estos sujetos tienden a explorar más su hábitat que los controles, es decir la desnutrición ocasiona un retraso y cambios en el desarrollo del patrón de locomoción adulto, el cual se desarrolla a partir de los 14 días posnatales, en los sujetos desnutridos ocurre a los 15-16 días y no se desarrolla completamente hasta los 30 días de edad (Gramsbergen y Westerga, 1992), apesar de que muestran una menor actividad locomotora y largas latencias de inicio del patrón de caminar (Almeida y Cols., 1991).

La característica circádica de la ingesta de alimento es alterada, la rata se alimenta en la noche normalmente, los sujetos desnutridos comen pequeñas porciones de su alimento diario durante la segunda mitad del período de iluminación.

También se ha reportado que la desnutrición afecta ciertos parámetros del ciclo sueño-vigilia, como son la amplitud del ritmo circádico, la acrofase y la duración y número de los ciclos completos de sueño (Cintra y Col, 1988).



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

Los ritmos biológicos presentan gran variabilidad de frecuencias, desde un ciclo por milisegundo a un ciclo por año. Por otro lado, también el ambiente geofísico se caracteriza por la existencia de ciclos que se derivan de movimientos de la tierra y la luna en relación al sol, estos ciclos ambientales o geofísicos son los días, las mareas, las fases lunares y las estaciones del año. Cuando la frecuencia de un ritmo biológico se aproxima a la de un ciclo ambiental se le denomina con el prefijo Circa (Pittendrigh 1986, Rusak y Zucker, 1975); es así como a los ritmos biológicos cercanos a las 24 horas se les llama Ritmos Circadianos (Halberg, 1969).

Los ritmos circadianos son uno de los rasgos mas característicos de la adaptación de un organismo a su ambiente, en los mamíferos representan un importante proceso a través del cual eventos del medio interno son organizados en una apropiada secuencia temporal que permite una máxima adaptación al medio externo (Rusak, 1979a y 1979b). Una característica notable de los ritmos diarios observados en distintos organismos como las algas, las moscas, y los seres humanos es que éstos no sólo responden a cambios en el ambiente impuesto por los

principales mecanismos geofísicos, sino que presentan un sistema interno capaz de medir el tiempo (Pittendrigh, 1966), este sistema o reloj biológico permite al organismo predecir y prepararse con anterioridad a cambios en el ambiente geofísico asociado con el día y la noche (Turek, 1994).

De acuerdo a Pittendrigh y Dann(1976) para llevar a cabo este papel adaptativo los ritmos circádicos requieren que el sistema tenga dos características (Pittendrigh, 1976,1981): 1) Que tenga la capacidad de medir el tiempo biológico es decir que el ritmo circadiano sea generado endógenamente y que éste tenga un periodo cercano a 24 horas; 2) Que pueda medir el tiempo geográfico es decir que bajo condiciones ambientales usuales el periodo del oscilador se ajuste al periodo del ciclo ambiental, usualmente el ciclo L:O sirve como el agente sincronizador ("Zeitgeber") ambiental (Moore, 1983; Takahashi, 1982).

Augusto Forel sugirió que los organismos poseían una memoria temporal o "Zeitgedächtnis", y con este término se trató de explicar la naturaleza endógena de la ritmicidad biológica; sin embargo, C.S. Pittendrigh y J. Aschoff demostraron, por separado, la capacidad del organismo para medir el tiempo biológico y desarrollaron el concepto de Reloj Biológico, término que vino a remplazar al término Zeitgedächtnis, lo cual eliminó la implicación de fenómenos de aprendizaje en el origen de la ritmicidad biológica.

El termino reloj biológico implica un mecanismo fisiológico capaz de imponer un orden temporal sobre un ritmo medible u otra forma de ritmo biológico, implica la capacidad del sistema para oscilar con un periodo regular, así como la capacidad de usar dichas oscilaciones como una referencia temporal interna y permite una adecuada interacción en el dominio temporal entre el organismo y su ambiente.

El reloj biológico se podría identificar a diversos niveles de complejidad, desde el nivel molecular (gen Per, Takahashi, 1993; Takahashi y Cols., 1993) hasta el nivel de sistemas (ganglio cerebral en la polilla; Menaker y Cols., 1978) o de los moluscos (Aréchiga, 1993), pineal en aves (Cassone, 1990), o supraquiasmático en mamíferos (Moore, 1983).

Algunos autores como Pittendrigh, C.S. y J. Aschoff se refieren a reloj biológico como estructuras orgánicas que funcionarían como marcapasos (entidad localizable y funcional capaz de generar oscilaciones autosostenidas y de acoplar los distintos ritmos) capaces de imponer periodo y fase a los procesos orgánicos y otros autores como F. Halberg, lo definen como el resultado de la interacción de múltiples procesos fisiológicos oscilatorios, en donde la participación de estructuras específicas se limita al ajuste de fase entre los diversos procesos (Aguilar-Roblero, 1993).

El concepto del "origen endógeno" de la ritmicidad biológica está basado en la obtención de esta ritmicidad en condiciones típicas de aislamiento de señales ambientales temporales, la ritmicidad biológica persiste con una ligera pero significativa variación en el periodo que la caracteriza, esta variación de las 24 horas en el periodo de la oscilación indica que el ritmo observado no depende de fenómenos geofísicos cíclicos sino que el ritmo que emerge bajo condiciones constantes puede reflejar la conducta del reloj circádico bajo estudio.

Esta característica esencial de los organismos de ser capaz de mantener la ritmicidad circádica aun en ausencia de señales externas periódicas es el fenómeno conocido como "ritmo en Oscilación Espontánea" (Free Running), lo anterior sugiere la naturaleza endógena del oscilador biológico (Halberg, 1969). (Figura 1)

Tau ( $\tau$ ) representa el periodo endógeno del marcapaso (periodo- Es el tiempo requerido para completar un ciclo; Menaker, 1969); éste presenta pequeñas variaciones entre los individuos (intraindividual) de una especie pero presenta

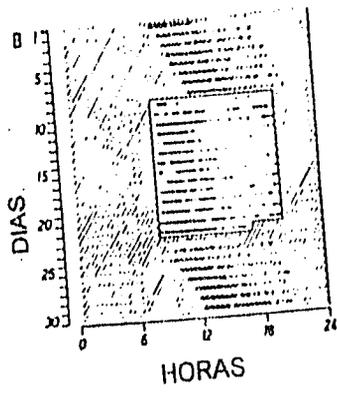
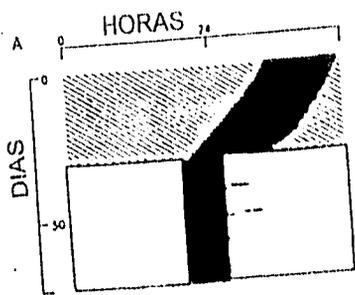


FIGURA 1 Representación gráfica de un ritmo circádico de actividad locomotora en hámster en oscilación espontánea y posteriormente en condiciones de sincronización.

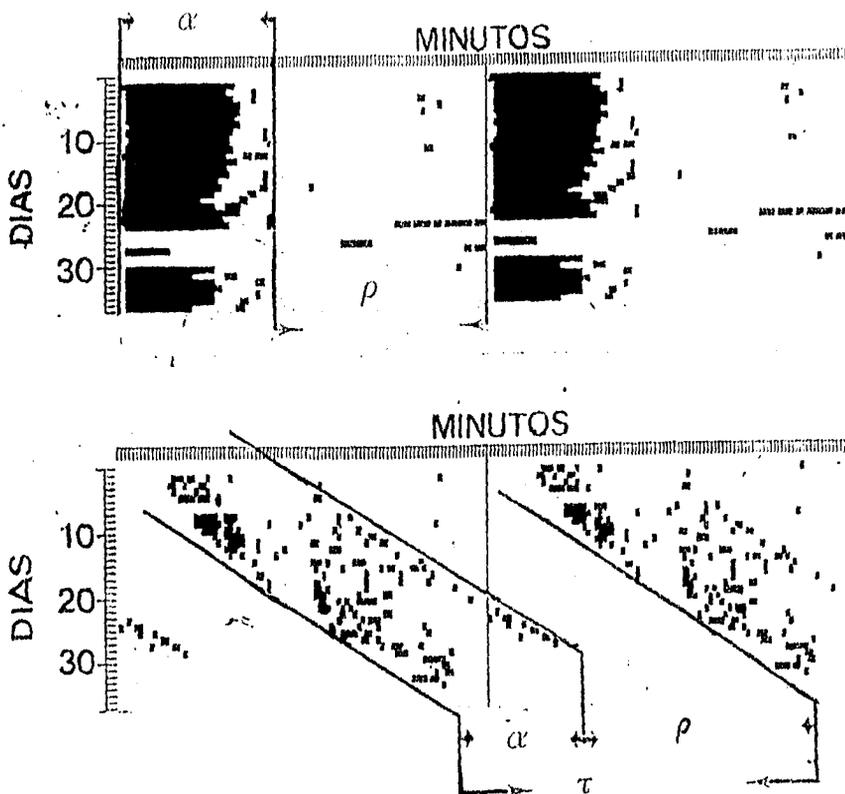
diferencias significativas con respecto a individuos de otras especies (intraespecífico), de tal forma que para cada especie podemos determinar un período característico, lo cual indica que Tau depende de la información genética.

Tau, a su vez, está compuesto por dos fracciones; un período de actividad llamado alfa y un período de reposo llamado rho. Alfa representa el intervalo (de tiempo) que sucede entre el inicio y el término de la actividad bajo estudio, a su vez rho representa el intervalo de la fracción de reposo o ausencia de la actividad en estudio, de modo que  $\tau = \alpha + \rho$ . (Figura 2)

Los ritmos circádicos en oscilación espontánea normalmente persisten por largos periodos de tiempo en un ambiente libre de señales ambientales, sin embargo no todos los ritmos circádicos persisten por largos periodos de tiempo en condiciones constantes, algunos ritmos se atenúan después de pocos días o semanas, especialmente en luz continua.

Los relojes circádicos en oscilación espontánea varían en su uniformidad (estabilidad de su período), algunos presentan una precisión impresionante y otros presentan periodos menos estables que se desvían con el tiempo (Enright, 1980). La medida de la uniformidad de un ritmo circádico no es la misma que la uniformidad del reloj que lo transmite, así el período del reloj ( $\tau_c$ ) es cerca de dos veces más uniforme que el período del ritmo ( $\tau_r$ ) que transmite; esta uniformidad diaria ha sido engrandecida por la evolución de mecanismos de compensación para cambios en la temperatura ambiental, el cual consiste en que tau se mantiene relativamente constante aun a pesar de las variaciones de temperatura capaces de afectar la cinética de los procesos enzimáticos (Pittendrigh y Cols., 1973; Pittendrigh y Takamura, 1987; Pittendrigh y Cols., 1991).

Además los productos de otras estructuras del organismo (glándula-hormona) pueden afectar a los ritmos biológicos (McEachron y Schull, 1993).



**FIGURA 2** El periodo ( $t$ ) endógeno del marcapaso está compuesto por dos fracciones, una de actividad llamada alfa ( $\alpha$ ) y una de reposo llamada rho ( $\rho$ ); en la parte superior se observa un ritmo circádico de actividad locomotora en hamster sincronizado a un ciclo L:O, en donde se puede evindenciar la fracción de actividad y de reposo; en la parte inferior un ritmo circádico de ingesta de agua en corrimiento espontáneo, en donde se puede distinguir ambas fracciones.

El período endógeno depende de las condiciones de iluminación ambiental y se resume su respuesta en las reglas de Aschoff.

Tau puede recibir influencia de periodos previos de sincronización y de las horas de luz en un ciclo luz/obscuridad por varios ciclos subsecuentes, en un fenómeno conocido como secuelas de sincronización (Afler Effects), estas secuelas de sincronización indican que eventos que imponen un período sobre el reloj circádico alteran las propiedades del reloj y los efectos residuales del período impuesto permanecen por varios ciclos (Pittendrigh y Daan, 1976 ).



En condiciones naturales el ambiente geofísico presenta diversas variaciones cíclicas por lo que la ritmicidad biológica no manifiesta su período en oscilación espontánea sino que presenta una estrecha relación temporal con éstos, la cual se manifiesta en forma mas notable en el período de la ritmicidad biológica y en su relación de fase con los ciclos ambientales. A este fenómeno se le denomina sincronización.

La capacidad de los ritmos circádicos a ser sincronizados, se refiere a la condición en la cual el período ( $\tau$ ) y la fase ( $\phi$ ) del reloj biológico se ajustan al período (T) y la fase del estímulo cíclico externo, (donde  $\tau = T$ ).

Una de las funciones más importantes del sistema circádico es asegurar que las conductas y el medio interno se ajusten apropiadamente con respecto a los eventos diarios en el ambiente, muchas especies adoptan un nicho temporal que se complementa a su nicho espacial, de este modo los mamíferos pueden ser nocturnos, diurnos o crepusculares o bien pueden confinar su actividad a tiempos limitados, estas relaciones entre los ritmos circádicos y las señales temporales ambientales probablemente maximice la supervivencia de cada especie a su mundo, dado que la disposición de alimento y la actividad de los predadores son también cíclicas

(DeCoursey, 1989).

Estudios de aislamiento temporal riguroso indicaron que solo ciertas variables ambientales son capaces de actuar como señales temporales. En 1951 Aschoff acuñó el término Zeitgeber del alemán "Dador de tiempo", el cual describe un ciclo ambiental periódico (Griffiths, 1986).

En los mamíferos la primera exposición a un ambiente cíclico es en el útero; la concentración de nutrimentos y hormonas que cruzan por la placenta al torrente sanguíneo del feto reflejan la ritmicidad circádica de la madre, ésta aparentemente es una fuerte señal que sincroniza el reloj biológico del feto (Reppert, 1979). El ciclo luz-obscuridad es el estímulo ambiental que comúnmente puede sincronizar a los ritmos circadianos en todas las especies de mamíferos, tanto nocturnas como diurnas, (sólo en el humano su efecto es controversial (Czeisler, 1981), debido a su estabilidad en el período y fase, lo que lo hace más predecible y se considera la principal señal de sincronización. Sin embargo, estos pueden ser sincronizados por otros estímulos (secundarios) como la temperatura, los campos electrostáticos, la presión ambiental, el sonido, la disponibilidad de alimento (Richter 1922, Krieger, 1974) y las señales sociales, aún en la presencia del ciclo L/O (Moore, 1980). Estos estímulos pueden preservar la función circadiana aún después de la ablación del reloj biológico, o sea el núcleo supraquiasmático (NSQ) en roedores (Moore, 1983).

Para demostrar que la oscilación de una variable ambiental actúa como una señal temporal al sistema circádico, debe presentar las siguientes características:

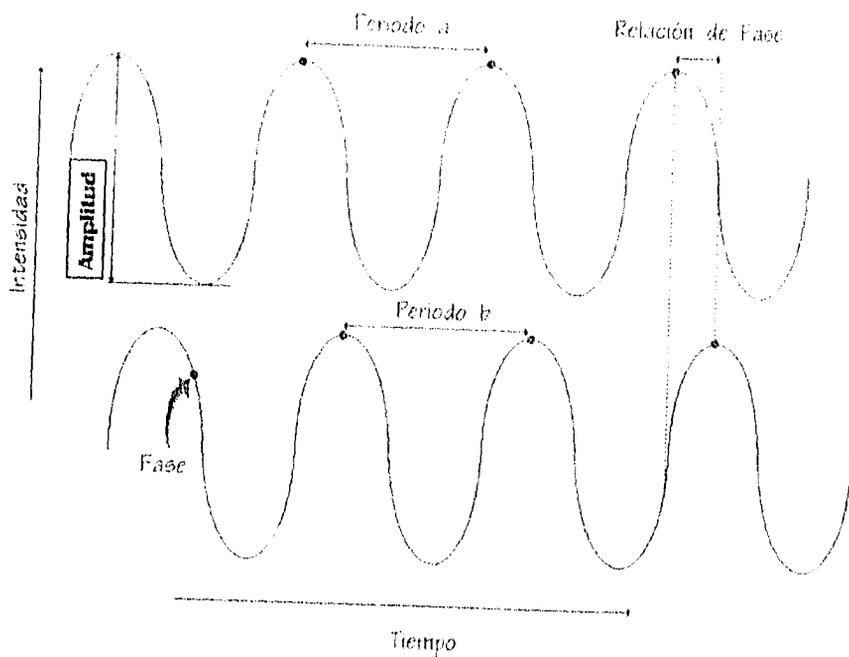
- 1)---Que el período del ritmo en oscilación espontánea sea el mismo antes y después de ser expuesto a la señal temporal.
- 2)---El período del ritmo circádico se ejeste al período del ciclo ambiental.
- 3)---Que se establezca y se mantenga una relación de fase estable entre el ritmo y el Zeitgeber.

4)---Cuando la señal temporal sea removida el ritmo inicie su oscilación espontánea en la fase determinada por el ciclo ambiental y no por el ritmo previo a la sincronización.

El ajuste de tau sólo es posible dentro de ciertos límites de frecuencia del período del Zeitgeber (T). Estos límites conforman el rango de sincronización para el marcapaso circádico (menos de 21 hrs. o mas grande de 28 hrs.) y sólo cuando el período de la señal temporal se encuentra dentro del rango de sincronización es cuando la señal puede ser efectiva (Pittendrigh y Calderola, 1973; Pittendrigh y Minis, 1972), este efecto se incrementa cuando se aumenta la potencia del sincronizador, esta potencia afecta a la ritmicidad en tres parámetros: a) la velocidad de los cambios de fase, b) la estabilidad del control de la fase y c) el rango de sincronización.

La relación de fase estable mantenida entre el Zeitgeber y un ritmo circádico es dependiente del período del Zeitgeber y del período natural del marcapaso que transmite el ritmo (Winfree, 1977); esta relación es definida en términos de diferencia en tiempo (hrs.) o en términos de diferencia en ángulo de fase (grados) entre la referencia de fase de las dos oscilaciones, la referencia de fase puede ser el inicio de la luz en un ciclo luz-obscuridad o el inicio de la fracción de actividad (ct 12) en un ritmo en oscilación espontánea. (Fig. 3)

Cuando se estudian simultáneamente el comportamiento de más de un sistema efector ante un estímulo sincronizador se puede observar que unos ritmos se sincronizan mientras que otros presentan oscilación espontánea, a este fenómeno se le denomina sincronización parcial o cuando se estudian los valores extremos del rango de sincronización, la misma se vuelve inestable y se observan fluctuaciones del período. a este fenómeno se le denomina sincronización relativa.



**FIGURA 3** Representación gráfica de un ritmo en donde se ha remarcado las principales características de la oscilación, como es la amplitud, el periodo, la fase y la relación de fase que pueda existir con otra oscilación.

En algunos casos una señal ambiental no es lo suficientemente fuerte como para sincronizar un ritmo circádico pero puede ejercer algún control sobre la fase. La relación de fase entre el Zeitgeber y el marcapaso es dependiente de la fuerza de acoplamiento entre el Zeitgeber y el marcapaso. La fuerza de acoplamiento depende de la fuerza del Zeitgeber y la sensibilidad del marcapaso a su Zeitgeber. Con algunos Zeitgebers, ciertas especies, el acoplamiento es muy fuerte y se establece un estrecho control de fase sobre el sistema circádico, en otros casos la fuerza de acoplamiento es muy débil y el zeitgeber puede modular el período del ritmo en oscilación espontánea solo en ciertas fases, esto produce el patrón de coordinación relativa.

Los estímulos sincronizadores pueden afectar al organismo sin necesidad de actuar sobre los osciladores biológicos, en estas circunstancias el estímulo actuaría directamente sobre los sistemas efectores de la ritmicidad, a este fenómeno se le llamó enmascaramiento. La principal característica de este fenómeno es que el estímulo ambiental no afecta ni al período ni a la fase del oscilador biológico.

Debido a esta capacidad de sincronización los ritmos circadianos en oscilación espontánea pueden sufrir adelantos o retrasos en su ocurrencia, los cuales son inducidos por la estimulación con pulsos de diversa índole. Dichos avances y retrasos son llamados cambios de fase. Un cambio de fase es el simple desplazamiento en la ocurrencia de una oscilación sin que ésta cambie sus características de período y amplitud. Cuando esto ocurre, la fase del ritmo endógeno se ajusta progresivamente perdiéndose así la relación de fase constante entre ambos fenómenos, los ciclos durante los cuales ocurre el ajuste de fase al nuevo estímulo se les denomina ciclos transitorios. El número de transitorios necesarios para alcanzar una relación de fase constante entre el ritmo manifiesto y el sincronizador se le llama velocidad aparente de sincronización y depende de la dirección de los ajustes de fase y del largo del período endógeno del oscilador (Pittendrigh y Daan, 1976).

La magnitud y dirección de los cambios de fase es dependiente del momento en que se presenta el estímulo con respecto a la oscilación en estudio, su representación gráfica se denomina curva de respuesta de fase (PRC). En dicha curva cuando a un animal nocturno se le presentan pulsos de luz al inicio del período de actividad (noche subjetiva temprana) se observa un retraso de fase, si el estímulo se aplica al final del período de actividad (noche subjetiva tardía) o al principio del día subjetivo se observa un avance de fase. Durante el resto de la fase de inactividad (día subjetivo) los pulsos de luz no tienen efectos y a esta región se le denomina zona muerta. Durante un avance de fase los animales tienen un período mayor de 24 horas y durante un retraso tiene un período menor de 24 horas (Meijer y Rietveld, 1989). En la PRC se grafica en la ordenada la fase del ciclo circádico en la que se presenta el estímulo y en la abscisa la magnitud del cambio de fase observado en el ritmo una vez alcanzado el estado estable, la fase del estímulo se expresa en horas circádicas y los cambios de fase del ritmo en estudio pueden ser graficados como avances y retrasos (horas). El descubrimiento de las características de respuesta de fase del sistema circádico ha contribuido al conocimiento de como los ciclos luz-obscuridad (y otros Zeitgebers) sincronizan a un marcapaso circádico, es decir los pulsos de luz son efectivos debido a que las transiciones luz-obscuridad y obscuridad-luz son reconocidas como una de las mayores características de la sincronización, además el efecto neto de los avances y retrasos de fase deben ser suficientes para ajustar el período endógeno a 24 horas y de este modo asegurar la sincronización a un ciclo día-noche de 24 horas (Pittendrigh, 1979).

Las características generales de la PRC son similares en todas las especies y las diferencias consisten en la forma de la onda, en la amplitud y en el balance relativo entre avances y retrasos de fase.

Cuando un fotoperiodo completo de sincronización se sustituye por dos pulsos discretos de luz presentados en las fases de transición de iluminación (encendido y apagado de la luz) se le denomina fotoperiodo esqueleto (Pittendrigh y Minis, 1964).

Existen dos modelos de sincronización, la sincronización paramétrica en la que se propone que el estímulo ambiental afecta de manera continua la velocidad angular del marcapaso, y la sincronización no paramétrica en la que sólo se afecta la fase del oscilador en las transiciones del inicio y fin del estímulo, sin embargo parece ser que tanto mecanismos paramétricos como no paramétricos parecen coexistir en los organismos.

Es remarcable que muchas propiedades de la sincronización a un ciclo luz-obscuridad natural puedan ser mimetizadas por simples pulsos de luz, sin embargo el fotoperiodo completo sirve para modular el proceso de sincronización, estabilizarlo y conservar la relación de fase del ritmo del animal a su ambiente.

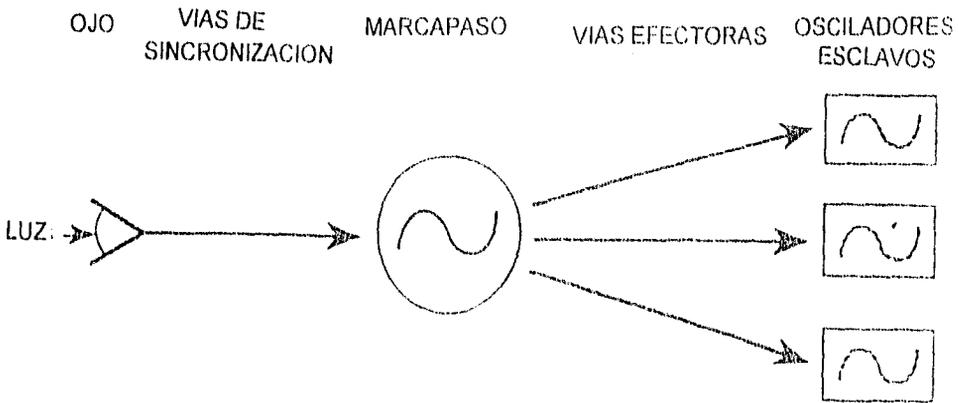


Es posible suponer que aunque la capacidad de presentar oscilaciones sea inherente a la función celular individual en organismos complejos, exista un mecanismo o un sistema cronométrico especializado en generar y regular las funciones implícitas en el concepto de reloj biológico.

El sistema fisiológico responsable de mediar a la ritmicidad circádica se le denomina sistema circádico, y está compuesto por tres componentes principales a saber: (Figura 4)

I) Uno o varios relojes biológicos capaces de generar oscilaciones autosostenidas (Eskin, 1979; Otto Friesen y Cols., 1993).

II) Vías aferentes que transmiten la información temporal acerca del ambiente externo (Rusak, 1979).



**FIGURA 4** El sistema circádico esta compuesto por: Los transductores de la información luminosa, las vías aferentes que median el proceso de sincronización, uno o varios osciladores y las vías eferentes que transmiten la información temporal a los efectores.

III) Vías eferentes que transmiten la oscilación a las estructuras responsables de la expresión de los ritmos (Takahashi y Zatz, 1982; Schwartz, 1993)

Como se mencionó anteriormente, el reloj biológico, es la parte del sistema circádico que tiene la capacidad de generar una oscilación usada por el animal para medir el tiempo aún en ausencia de aferentes cíclicas ambientales. Una característica importante que deben presentar las estructuras que pueden funcionar como reloj biológico es que éstas sean localizables, es decir, que porciones restringidas del sistema nervioso o neuroendócrino exhiban periodicidad circádica *in vitro* y que dichas estructuras puedan tener una importancia relevante en la medición del tiempo. Se han identificado distintas estructuras en diversas especies las cuales podrían funcionar como osciladores tales como la retina de anfibios y de algunos moluscos, el ganglio de los insectos, la pineal de aves y en los mamíferos, en especial los roedores, el NSQ se considera el oscilador principal (Block y Cols., 1993; Rusak y Zucker, 1979; Block y Page, 1978; Jacklet, 1985; Binkley, 1993; Miller, 1993).

Con respecto al NSQ la lesión electrolítica de este núcleo y no de otras estructuras cerebrales, elimina diferentes ritmos circádicos conductuales, endócrinos y metabólicos (Moore y Eicler, 1972; Stephan y Zucker, 1972; Van Den Pool y Powel, 1979 y Pickard y Turek, 1982b ), bajo condiciones de oscilación espontánea y de sincronización, en una variedad de especies de mamíferos incluyendo primates.

Además el NSQ presenta ritmos circádicos de actividad eléctrica ( Groos y Mason, 1978; Groos y Hendriks, 1982; Groos y Cols, 1983; Green y Guillete, 1982; Inouye y Kawamura, 1979; 1982) y de captura de 2-deoxiglucosa "in vitro" e "in situ" ( Schwartz y Gainer, 1977; Schwartz y Cols, 1980; Schwartz y Cols, 1983; Newman y Hospod, 1986 ) en diferentes especies (Weaver y Reppert, 1987; Schwartz y Cols, 1983; Schwartz y Crosby, 1985).

Los niveles de vasopresina muestran pronunciadas fluctuaciones diurnas en el líquido cefaloraquídeo (LCR) y no en el torrente sanguíneo (Reppert y Cols, 1981), este ritmo es detectado en una gran variedad de especies de mamíferos; es circádico en naturaleza y su fase es sincronizada al ciclo L:O, es decir persiste en condiciones constantes y responde a los cambios de fase de la iluminación con un cambio de fase (Reppert y Schwartz, 1990; Schwartz y Cols., 1983), así como la lesión de el NSQ ocasiona la pérdida de este ritmo (Jolkkonen y Cols., 1988).

Una de las aproximaciones al estudio de las relaciones estructura-función dentro del sistema nervioso central ha involucrado el uso de los trasplantes de tejido fetal de regiones cerebrales específicas en animales adultos con el fin de restaurar una actividad neuronal (Bjorklund y Stenevi, 1985; Gash y Sladek, 1984; Perlow, 1979) Los trasplantes de NSQ fetal a sujetos arrítmicos inducen la recuperación funcional de diferentes conductas rítmicas (Drucker-Colin y Cols, 1984; Sawaki y Cols, 1984; Ralph y Lehman, 1992; De Coursey, 1989; Ralph y Lehman, 1990 y Aguilar-Roblero y Cols, 1992a; Boer y Griffioen, 1992; LeSauter y Silver, 1994) bajo ciclos de iluminación L:O 12:12 y en condiciones de oscuridad continua (Aguilar-Roblero y Cols., 1986). Sin embargo, la evidencia que sustente que el NSQ es el marcapaso circádico requiere que las características propias de un ritmo, el periodo, la fase y la PRC, sean transplantables; el descubrimiento de un hámster dorado, mutante de periodo corto (Ralph y Menaker, 1988) llamado Tau, ha permitido explorar esta pregunta, realizando trasplantes entre hámster de periodo normal y animales Tau, se encontró que el periodo del ritmo restaurado siempre reflejaba el genotipo del tejido donador (Ralph y Cols, 1988,1990); Davis (1989) reportó que la fase del ritmo restaurado usando donadores fetales, es la de la madre sincronizada a un ciclo L:O, esto sugiere que la fase del ritmo fetal es conservada durante el transplante y en el intervalo de recuperación.

Los trasplantes con NSQ desarrollan las características citológicas y neuroquímicas propias de él, éstos presentan grupos de neuronas y plexos de fibras de neuropéptidos característicos del NSQ (De Coursey y Buggy, 1989; Aguilar-Roblero y Cols., 1992a y 1992b; Lehman y Cols., 1987) en una organización idéntica a la vista en el NSQ intacto, también retiene la capacidad de restaurar la función de reloj circádico, es decir de generar ritmos endógenos de actividad secretora (Earnest y Cols., 1989), de actividad locomotora (De Coursey y Buggy, 1988) y de ingesta de agua (Aguilar-Roblero y Cols., 1992b); además el NSQ transplantado presenta actividad metabólica (2-DG) y eléctrica propias del NSQ intacto.

La evidencia anterior sugiere que el NSQ funciona como el marcapaso circádico principal del SNC, además sugiere un sistema circádico monoscilador (Rusak, 1989; Turek, 1985).

Sin embargo, otros núcleos hipotalámicos como el núcleo ventromedial o el área lateral hipotalámica pueden contener osciladores atenuados que no manifiestan su función de manera significativa en los organismos intactos pero serían capaces de mantener una función circádica mínima después de la lesión del NSQ (Moore, 1983). Aunque estos osciladores no son capaces de funcionar como el marcapaso principal, en animales intactos, podrían funcionar ajustando la fase de un ritmo fisiológico particular (Meneker, 1978). Además existe evidencia que indica la persistencia de ritmos en oscilación espontánea y en sincronización que persisten aún después de la destrucción total del NSQ, sin embargo estos no persisten por prolongados periodos bajo condiciones constantes (Kittrell, 1991; Mistlberger y Rusak, 1988; Turek, 1985).

La aparición de ritmos ultradianos después de la lesión del NSQ, sugiere la existencia de otros osciladores fuera del NSQ, los cuales son normalmente acoplados por el NSQ, acoplamiento que se hace inestable después de la lesión del mismo, además la presencia de proyecciones retinales a regiones hipotalámicas fuera del NSQ indica que la información fótica puede influir sobre otras áreas del hipotálamo

(Card y Moore, 1984). La actividad anticipatoria asociada con el alimento (Mistlberger y Rusak, 1988; Mistlberger, 1994) podría involucrar un mecanismo oscilatorio circádico, ya que la respuesta no ocurre cuando el alimento es presentado a intervalos menores o mayores de las 24 hrs (Stephan, 1981), estos osciladores pueden estar fuera del NSQ, ya que la presentación del alimento puede sincronizar los ritmos en ratas con lesión del NSQ, además estudios en humanos indican que diferentes ritmos circádicos pueden ser controlados por diferentes marcapasos (Weaver, 1986). Esto sugiere una organización multioscilar de los ritmos circádicos en mamíferos (Moore-Ede y Cols., 1976; Moore-Ede, 1983; Rosenwasser y Adler, 1986), idea que es corroborada por los fenómenos de partición (Splitting) en distintas especies de vertebrados, las cuales incluyen hámsters, ratas, primates, ratones, etc. (Pittendrigh y Dan, 1976; Rosenwasser y Adler, 1986; Turek, 1993) y la desincronización interna en humanos (Eastman, 1984; Aschoff y Wever, 1986). La etiología del splitting parece que involucra osciladores dentro del NSQ, ya que la lesión de un NSQ puede abolir el splitting (Pickard y Turek, 1982), sin embargo la creencia de que el splitting es debido solamente a que cada NSQ actúa independiente no es tan cierta, ya que se ha observado en hámster splitting con un solo NSQ (Davis y Gorski, 1984); este fenómeno parece ser característico de la estructura interna del sistema circádico central en el NSQ. Recientes estudios indican que la actividad eléctrica dentro del NSQ de animales con actividad locomotora en Splitting muestran una frecuencia de disparo bimodal in vitro (Zlomanczuk y Cols., 1991). El hecho de que un solo NSQ sea capaz de mantener por sí mismo una ritmicidad circádica (Pickard y Turek, 1983), en rebanadas hipotalámicas, las cuales contienen solo una porción del NSQ continúan mostrando una ritmicidad in vitro (Guillette, 1991), además que las lesiones de diferentes regiones del NSQ, el tejido restante mantiene la ritmicidad normal (Pickard y Turek, 1983); esto sugiere que cada NSQ podría contener osciladores circádicos simples o que cada NSQ está

organizado dentro de un complejo oscilatorio compuesto de muchas unidades.

De este modo, los ritmos circadianos resultarían de la interacción de poblaciones de varios osciladores acoplados (Rusak, 1979).

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

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

En un estudio reciente en el que se analizó la ritmicidad circádica del ciclo sueño-vigilia se pudo constatar que la desnutrición crónica interfiere de forma importante en los procesos de control del ciclo sueño-vigilia y probablemente en su ritmicidad circádica (Cintra y Cols, 1988), durante la fase de reposo en O:O y en L:O el sueño MOR se incrementó en forma significativa. Bajo un ciclo L:O aumentó el SOL y disminuyó la vigilia, la amplitud promedio de 24 hrs. fue mayor en los sujetos desnutridos que en los control, el periodo del ritmo mostró mayor variabilidad.

Recientemente, un estudio reportó que en sujetos desnutridos el NSQ, el substrato anatómico de la generación de los ritmos circádicos en mamíferos, presentaba alteraciones morfológicas en algunos tipos celulares del mismo, principalmente se presentaba una reducción del tamaño somático de las células del NSQ, esto sugiere que las alteraciones circádicas que suceden en el ciclo sueño-vigilia pueden tener un substrato anatómico en las alteraciones antes mencionadas (Cintra y Cols, 1994).

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

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

Es por esto que el objetivo del presente estudio fue el de analizar los efectos de la desnutrición proteínica sobre los ritmos circádicos a través del estudio de la ingesta de agua en ratas. Este modelo nos permite por una parte poder realizar el registro conductual en forma continua por largos intervalos de tiempo y el análisis del mismo, nos permite caracterizar a las fases de actividad y reposo de un ciclo circádico. Al mismo tiempo, podemos caracterizar la ritmicidad circádica y podemos manejar y controlar las distintas variables experimentales como son: La temperatura, iluminación y alimentación (dieta).

## OBJETIVOS

.....Determinar el efecto de la malnutrición proteica implantada pre y postnatalmente sobre el ritmo circádico de ingesta de agua en ratas.

I) Determinar el efecto de la malnutrición proteica sobre la ontogenia del ritmo circádico de ingesta de agua.

II) Determinar el efecto de la malnutrición proteica sobre la arquitectura del ritmo de ingesta de agua en condiciones de sincronización.

III) Determinar el efecto de la malnutrición proteica sobre la arquitectura del ritmo circádico de ingesta de agua en condiciones constantes.

IV) Determinar el efecto de la malnutrición proteica sobre la sincronización del ritmo circádico de ingesta de agua.

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

### ANIMALES Y CONDICIONES GENERALES:

Se usaron ratas de la cepa Sprague-Dawley de ambos sexos para todas las etapas del experimento; los animales se mantuvieron bajo un ciclo de iluminación de 12 hrs de luz y 12 hrs de oscuridad (las luces se encendían a las 8 am. con una intensidad de 400 lux) al inicio del experimento, posteriormente se colocaron bajo condiciones de oscuridad continua. Los cuartos de animales estuvieron sonomortiguados y la temperatura se mantuvo entre los 20 y 22 °C. La comida y el agua estuvieron disponibles en forma continua. Las jaulas de animales se limpiaban cada tercer día y se cambiaban cada semana.

### DIETA Y MODELO DE DESNUTRICIÓN

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

Se emplearon 40 ratas hembras con un peso de 200-300 gr y 10 machos cuya edad fluctuaba entre los 90 y 100 días, los cuales fueron asignados al azar para integrar al grupo control o al experimental; para el apareamiento se utilizaron 4 hembras, las cuales fueron colocadas con un macho hasta que se apareaban. Los machos seleccionados para aparearse con las hembras consumieron una semana antes la dieta semejante a la suministrada a las hembras del lote correspondiente

(25% - 6% de caseína). Las hembras preñadas fueron separadas en cajas individuales. El procedimiento de obtención de sujetos experimentales consistió en dividir en dos lotes al azar el número total de hembras preñadas. (n=10) de modo que cada lote de hembras se alimentó con una dieta experimental distinta durante un periodo que abarcó cinco semanas antes del apareamiento, durante la gestación y la lactancia. Las camadas fueron estandarizadas a 8 neonatos el día de nacimiento. Al destete las crías se alimentaron con las dietas respectivas a la camada de origen. De tal modo que se cubrió la etapa prenatal y postnatal del desarrollo con la misma dieta.

### **REGISTRO CONDUCTUAL**

A los 30 días de edad, (10 días después del destete) los sujetos fueron colocados en cajas individuales de plástico transparente (50x30x35 cm) donde se monitoreó su ingesta de agua en forma continua por un periodo de 6 a 10 meses bajo diferentes condiciones de iluminación. Las cajas tenían una placa de aluminio en el piso. Justo por encima de la placa se colocó una botella con agua con un bebedero de acero inoxidable cubierto con un tubo de plástico que sobresalió 2mm del orificio de salida del mismo. Para que el sujeto bebiera el agua fue necesario que se parara sobre la placa del piso e introdujera la lengua un par de milímetros dentro del plástico protector, esto garantizaba que la rata solo hiciera contacto con el bebedero cuando tomaba agua y no al realizar otras actividades. La placa y el bebedero se conectaban a un sensor, el cual cada vez que la rata tocaba el bebedero cerraba un circuito, lo que generaba una señal eléctrica. Esta última era detectada y colectada en una computadora Apple IIe; la cual almacenaba la información cada 30 segundos, la que posteriormente era compactada en archivos de 15 min; la información se almacenó en discos flexibles.

Los datos así obtenidos fueron utilizados para su posterior graficación y análisis estadístico en un computadora PC-486. Inicialmente los datos se graficaban como actogramas dobles. El actograma es un tipo de graficación que consiste de una serie de histogramas individuales ordenados secuencialmente, cada histograma representa en las abscisas los intervalos de tiempo de registro en que se dividió un día y en las ordenadas la intensidad de la variable estudiada, así como los distintos días de registro arreglados a manera de renglón. A partir del análisis visual y gráfico de los actogramas se obtuvo el valor del periodo ( $\tau$ ), del ajuste de fase ( $\phi$ ), de la fracción de actividad ( $\alpha$ ) y de la de reposo ( $\rho$ ). El análisis del periodo puede ser realizado de varias formas, si hay un punto de referencia identificable (CT12) se puede utilizar la estimación gráfica del periodo y la fase, la cual consiste en una regresión lineal de varios puntos de referencia y el valor de la pendiente resultante será el valor del periodo.

Posteriormente, los datos se analizaron por la transformada rápida de Fourier para determinar su densidad espectral y además se realizó el análisis de periodograma de  $x^2$ . El periodograma y la densidad espectral, son técnicas matemáticas que nos permiten estimar el periodo de los componentes responsables de la periodicidad de un fenómeno oscilatorio.

## **CONDICIONES DE ILUMINACIÓN**

Los animales de ambos grupos nutricionales fueron monitoreados bajo las mismas condiciones de iluminación de manera simultánea, 1) luz-obscuridad (12:12, 400 lux), 2) obscuridad continua (luz roja tenue, 50 lux) y 3) fotoperiodo esqueleto de dos pulsos de luz a intervalos de 12 horas (30 minutos, 400 lux).

El fotoperiodo esqueleto consiste en colocar al sujeto en oscuridad continua y aplicarle dos pulsos breves de luz por ciclo, estos simulan la acción del fotoperiodo completo, la duración del fotoperiodo esqueleto es el intervalo entre el inicio de un pulso y el final del segundo, la distinción entre ellos consiste en cual de los dos pulsos en cada ciclo de 24 hrs. es tomado por el marcapaso como la señal final del fotoperiodo (Pittendrigh y Daan, 1976; Pittendrigh y Minis, 1964).

## **DISEÑO EXPERIMENTAL.**

**EXPERIMENTO 1---** Para el experimento uno se utilizaron 46 animales de ambos sexos y de ambos grupos nutricionales, los sujetos se colocaron bajo registro a los 30 días de edad y se les monitoreó la conducta de ingesta de agua de manera continua por un periodo de 120 días bajo un ciclo luz-oscuridad 12:12. Los datos fueron graficados en actogramas dobles, los cuales se analizaron visualmente, posteriormente fueron analizados para determinar los parámetros de arquitectura del ritmo de ingesta de agua (alfa, rho, angulo de fase y periodo); finalmente se analizó el periodo por medio de la densidad espectral y del periodograma  $X^2$  a las edades de 30, 90 y 120 días.

**EXPERIMENTO 2---** Para el experimento dos se utilizaron ratas de ambos sexos y de ambas condiciones nutricionales bajo condiciones constantes. El estudio inició cuando un ciclo luz-oscuridad era cambiado a oscuridad continua y el registro continuaba por un periodo de 45 días, al final del mismo el periodo endógeno ( $\tau$ ) se evaluó por el método gráfico y estadístico utilizadas por el experimento uno. (El procedimiento gráfico consistió en regresiones lineales del inicio de alfa en bloques de 10 días consecutivos, el periodo endógeno correspondía a la pendiente de la línea trazada.)

**EXPERIMENTO 3---** En el experimento 3 se utilizaron ratas de ambos sexos y de ambas condiciones nutricionales; el experimento inicio cuando un previo ciclo de oscuridad continua fue cambiado a un ciclo luz-oscuridad (12:12) durante 30 días, el análisis del curso temporal de la sincronización al fotoperiodo completo consistió en evaluar el número de transitorios que tarda el sujeto en sincronizarse a un nuevo fotoperiodo, se consideró a un sujeto sincronizado cuando la actividad muestra un periodo de 24 horas con un ángulo de fase constante entre el inicio de la actividad y el periodo de oscuridad mantenida durante días consecutivos.

**EXPERIMENTO 4---** Finalmente en el experimento 4 se procedió a colocar algunos sujetos a un fotoperiodo esqueleto que consistía de 30 minutos de luz cada 12 horas ( la luz se encendía a las 8:00 y a las 20:00 hrs., 400 lux); las latencias de sincronización al fotoperiodo esqueleto fueron computadas como en el experimento anterior.

## **ANALISIS.**

Los parámetros de arquitectura del ritmo de ingesta de agua registrados bajo un ciclo luz-oscuridad se estimaron por la siguiente técnica, se analizaron bloques de 10 días a los 30, 90 y 130 días de registro y se procedió a determinar para cada bloque: 1) La fase promedio del inicio de la fracción de actividad de cada ciclo (Alfa), la cual es en la gran mayoría de los registros un marcador altamente preciso de la ritmicidad; 2) La fase promedio del inicio de la fracción de reposo (Rho); 3) A partir de dichos valores se determinó la duración de los periodos de reposo y de actividad para cada ciclo, estos parámetros se denominan  $\alpha$  y  $\rho$  respectivamente; 4) El valor de tau se obtuvo de acuerdo a la formula:  $(\text{alfa} + \text{Rho} = \text{Tau})$ ; 5) El ángulo de fase de alfa y de rho con respecto al momento en que se apagan las luces y 6) Además se realizó la estadística descriptiva para cada uno de los parámetros del ritmo circádico de ingesta de agua en los bloques del registro antes mencionados. Es decir, la

duración promedio de los segmentos de actividad y de reposo, el periodo del ciclo ( $\tau$ ) y la fase del inicio de la actividad, estos parámetros se denominan  $\alpha$ ,  $\rho$ ,  $\tau$ ,  $\phi$ , así como su variabilidad ( $\alpha, \rho, \tau, \phi$ ).

La variación estadística de estos parámetros puede ser usada como un estimado de la labilidad de los ritmos circádicos. Entendiéndose esta última como la dificultad del sistema para mantener un estado estable. Esta labilidad en  $\tau$  no es al azar, si no que refleja la capacidad del marcapaso de preservar el estado estable, caracterizado por  $\tau$ , el cual puede ser susceptible a ser sincronizado por agentes externos (Pittendrigh y Daan, 1976).

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



Este experimento se diseñó con el fin de estudiar el desarrollo del ritmo de ingesta de agua de los 30 a los 180 días de edad, así como la arquitectura del mismo en ratas bajo un ciclo luz-oscuridad (12:12)



El examen visual de los sujetos control en los primeros días de registro se caracterizó porque la arquitectura del ritmo de ingesta de agua no estaba bien definida, presentándose varios componentes ultradianos transitorios, que posteriormente se sincronizaban al ciclo luz:oscuridad y se compactaban en un solo bloque de actividad, que se mantenía a lo largo de todo el registro.

La duración de las fracciones alfa y rho del ritmo de ingesta de agua, en los primeros días de registro (30 días), se caracterizó por ser muy variable entre los sujetos y la fracción de actividad predominó sobre la fracción de reposo. A los 90 días la duración de las fracciones de actividad y de reposo eran semejantes entre sí, aunque alfa seguía siendo ligeramente mayor que rho, a los 120 días ambas fracciones presentaban valores similares, de este modo el aspecto visual del actograma era muy semejante al de un sujeto adulto.

El ajuste de fase en los sujetos control con relación al índice de fase, va siendo cada vez más preciso, en los primeros días de registro los sujetos mostraban dificultades para ajustarse a la fase del ciclo de iluminación, en los días posteriores dicho ajuste fue mejorando, para que finalmente todos los sujetos mostraran una clara sincronización al ciclo L:O. ( fig.5 )

El registro en los sujetos malnutridos, se caracterizó por una alta variación intraindividual; en los primeros días se presentaron varios componentes en oscilación espontánea los cuales no se compactaron en un solo bloque de actividad a lo largo de todo el registro.

La fracción de actividad predominó en estos sujetos, estando rho muy disminuida a los 30 y 90 días de edad. A los 120 días de edad la mayoría de los sujetos desnutridos presentaron la presencia de dos fracciones de actividad, en un fenómeno parecido al de la partición en el hámster mantenido en luz continua, esta partición se inicia a los 90 días aproximadamente en los sujetos desnutridos, la cual principia con la presencia de componentes transitorios con periodos ultradianos, los cuales salen del componente principal de actividad, formando un nuevo bloque de actividad, el cual finalmente establece una relación de fase estable entre ellos a los 100-110 días de edad, este fenómeno permanece por el resto del registro en L:O ( fig 6 ); en los sujetos los cuales no sufren esta partición, a esta edad (90-120 días) el registro es extremadamente variable, predominando fuertemente alfa sobre rho, además se observa la presencia continua de componentes transitorios oscilando con distintos periodos (fig 7).

En estos sujetos malnutridos el ajuste de fase fue muy impreciso; al inicio del registro (30 días) aparentemente no se ajustaba su fase a la del ciclo de iluminación, posteriormente a los 90 días presentaban continuos adelantos en el ángulo de fase del inicio del alfa respecto al inicio de la obscuridad. A los 100 días de edad los sujetos que no sufrían partición presentaban una relación de fase extremadamente variable, aún más que en edades tempranas, presentando continuos adelantos y retrasos en el ángulo de fase, sin lograr un ajuste adecuado a lo largo de todo el registro; en los sujetos que sufrieron partición a la edad de 100-120 días, el inicio de alfa de uno ó de ambas fracciones se presentaban con continuas variaciones. (fig. 6)

El análisis de densidad espectral demostró que los sujetos control presentaban un componente principal con un periodo circádico y componentes armónicos en los rangos ultradianos e infradianos a la edad de 30 días, estos componentes no circádicos fueron desapareciendo conforme avanzaba la edad y el componente circádico ( $25.43 \pm 0.83$ ) fue aumentando gradualmente en amplitud (fig. 8). En cambio los sujetos malnutridos presentan varios componentes cercanos a las 24 horas, además de componentes de gran potencia en frecuencias ultradianos e infradianos a la edad de 30 y 90 días, a los 120 días el componente circádico disminuyó en amplitud y los componentes ultradianos aumentaron en amplitud, presentándose componentes en los valores armónicos de las 24 horas, el periodo promedio fue de  $24.22 \pm 2.79$  (fig. 9).

El uso del periodograma de  $X^2$  nos permitió observar claramente la ontogenia del ritmo circádico de ingesta de agua: los sujetos control a los 30 días de edad presentaron un fuerte componente circádico, sin embargo también se podían observar otros componentes de menor amplitud en el rango ultradiano e infradiano, a los 90 días de edad el componente circádico aumenta en amplitud, y este sigue siendo significativo, los componentes ultradianos desaparecen totalmente y sólo pueden ser observados algunos en el rango infradiano de menor amplitud, finalmente a los 120 días de edad el componente circádico aumenta considerablemente su amplitud y los componentes ultradianos e infradianos desaparecen totalmente, el periodo promedio fue de  $24.28 \pm 1.63$  (fig. 10).

En cambio los sujetos malnutridos presentaron a los 30 días de edad, en la mayoría de los registros, un componente circádico detectable con una amplitud de relativa importancia acompañado de componentes ultradianos e infradianos, a los 90 días seguía presentándose este componente circádico aún con mayor amplitud que a los 30 días de edad, sin embargo y sobre todo los componentes ultradianos empezaron a presentarse de manera mas evidente, a los 120 días de edad se podía

localizar fácilmente el componente circádico, en la mayoría de los casos la amplitud de este disminuía y aparecía otro componente en el rango ultradiano con una amplitud considerable, esto confirmaba la partición observada en los registros conductuales, el periodo promedio fue de  $24.54 \pm 0.92$  (fig. 11).

Con el fin de tener una descripción cuantitativa de los fenómenos antes mencionados se procedió a analizar la arquitectura y la labilidad de los ritmos circadianos de la forma descrita en la sección de métodos.

El desarrollo de la arquitectura del ritmo (Alfa y Rho) de ingesta de agua en sujetos control y malnutrido se presentan en la figura 12 para la edad de 30, 90 y 120 días de edad. En esta gráfica se observa que a los 30 días los sujetos control presentan valores medios de la fracción de actividad y de reposo de  $16.77 \pm 2.48$  horas para alfa y de  $7.21 \pm 2.33$  horas para rho; a los 90 días se observa que rho aumenta ligeramente; siendo alfa de  $14.08 \pm 2.5$  horas y Rho de  $9.53 \pm 2.33$  horas, a los 120 días alfa presenta un valor de  $13.54 \pm 1.77$  y rho de  $10.06 \pm 1.79$ .

Los sujetos malnutridos, en cambio, presentaron a los 30 días la fracción de actividad incrementada con respecto a la fracción de reposo, siendo el valor medio de alfa de  $15.67 \pm 2.04$  horas y el de rho de  $8.46 \pm 2.05$  horas. A los 90 días se observa que alfa sigue aumentada pero sus valores disminuyeron en comparación a los observados a los 30 días, siendo de  $13.28 \pm 3.37$  horas para alfa y  $10.72 \pm 3.41$  horas para rho, a los 120 días el valor de alfa es de  $6.05 \pm 1.72$  y el de rho da  $4.66 \pm 1.26$ . Las diferencias entre los valores de alfa entre los sujetos desnutridos y los controles fueron estadísticamente significativos a los 120 días de edad.

Con respecto al desarrollo de Tau, registrado a los 30, 90 y 120 días indica que a los 30 días los sujetos control presentaron un valor medio del periodo de  $24.13 \pm 0.59$  horas, a los 90 días el valor medio del periodo es de  $24.28 \pm 0.33$  horas, y a los 120 días de  $23.22 \pm 0.24$ , lo que nos sugiere que los sujetos están parcialmente sincronizados desde los 30 días de edad. A los 30 días los sujetos malnutridos

presentaron un periodo de  $24.39 \pm 0.81$  horas, de  $24.17 \pm 2.42$  horas a los 90 días y de  $11.34 \pm 1.08$  a los 120 días lo cual nos indica trastornos en la capacidad de sincronización a los 120 días de edad (fig 13).

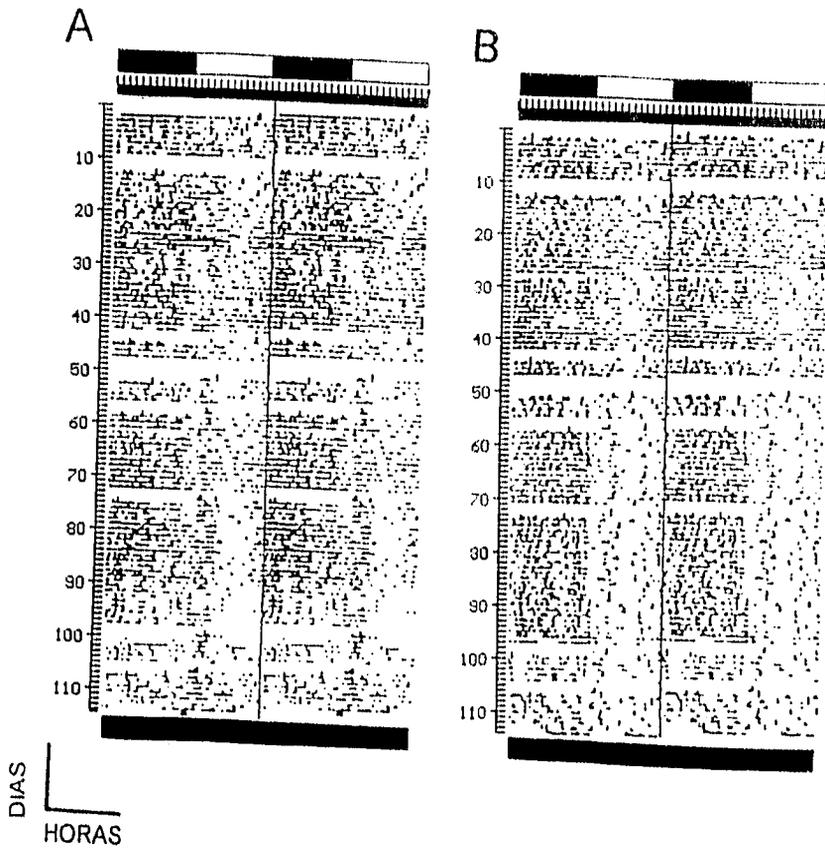
El desarrollo del ángulo de fase para los sujetos control a los 30 días de edad presentó un valor del ángulo de fase de  $+2.72 \pm 2.10$  horas, a los 90 días el valor del ángulo de fase es de  $+1.42 \pm 1.58$  horas y a los 120 días es de  $-0.14 \pm 0.09$ . En los sujetos malnutridos a los 30 días el ángulo de fase presenta un valor  $+2.61 \pm 2.58$  horas mientras que a los 90 días es de  $+1.62 \pm 2.83$  horas y a los 120 días de  $6.5 \pm 1.03$  (fig 14). Estos resultados también sugieren que la desnutrición ocasiona una interferencia en el proceso de sincronización a los 120 días de edad (resultados resumidos en la tabla III).

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

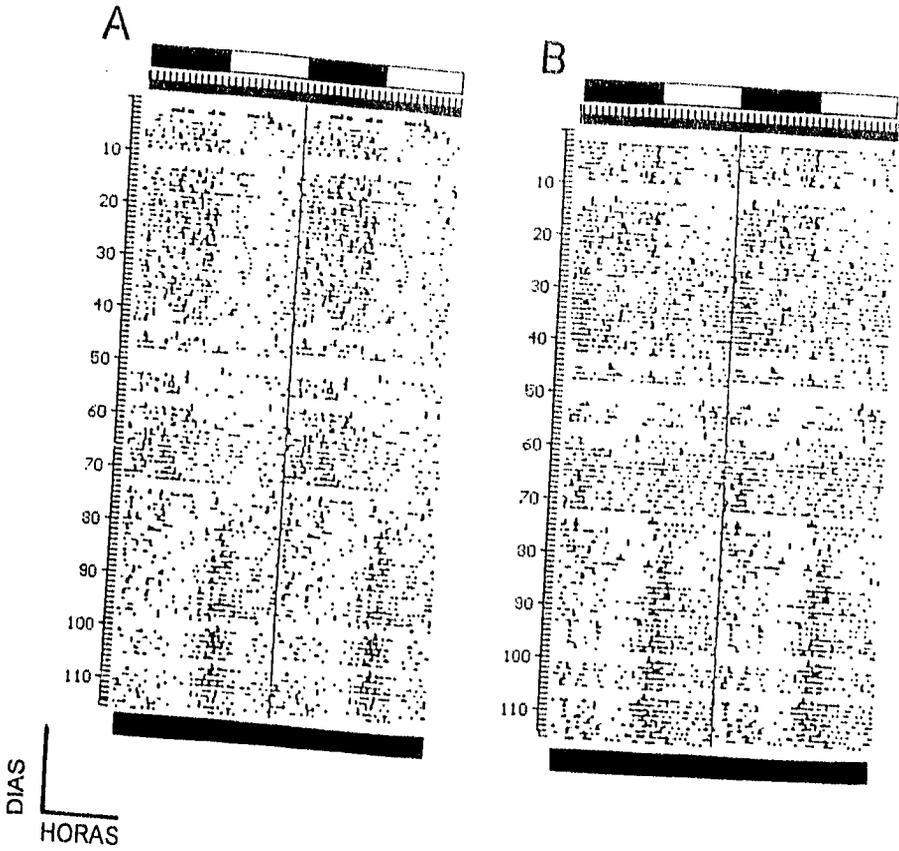
La labilidad de Tau a la edad de 30 días en los sujetos control presenta un valor de  $1.76 \pm 1.1$ , el cual descendió a los 90 días a  $1.12 \pm 0.57$  y a los 120 días presentó un valor de  $0.85 \pm 1.42$ ; en cambio los sujetos malnutridos a los 30 días presentaban un valor de labilidad de  $1.77 \pm 1.53$ , a los 90 días aumentó a  $2.6 \pm 3.07$  y a los 120 días es de  $4.09 \pm 0.93$  (fig. 15).

A su vez el ángulo de fase, el cual es un buen indicador de que tan sincronizados están los sujetos, (la labilidad de este parámetro nos indicaría que tan eficiente es la sincronización a estas edades) a los 30 días los sujetos control presentaron un valor de la labilidad de  $1.87 \pm 1.5$  el cual va disminuyendo con el paso del tiempo, a los 90 días alcanza un valor de  $0.84 \pm 0.65$ , a los 120 días es de  $0.94 \pm$

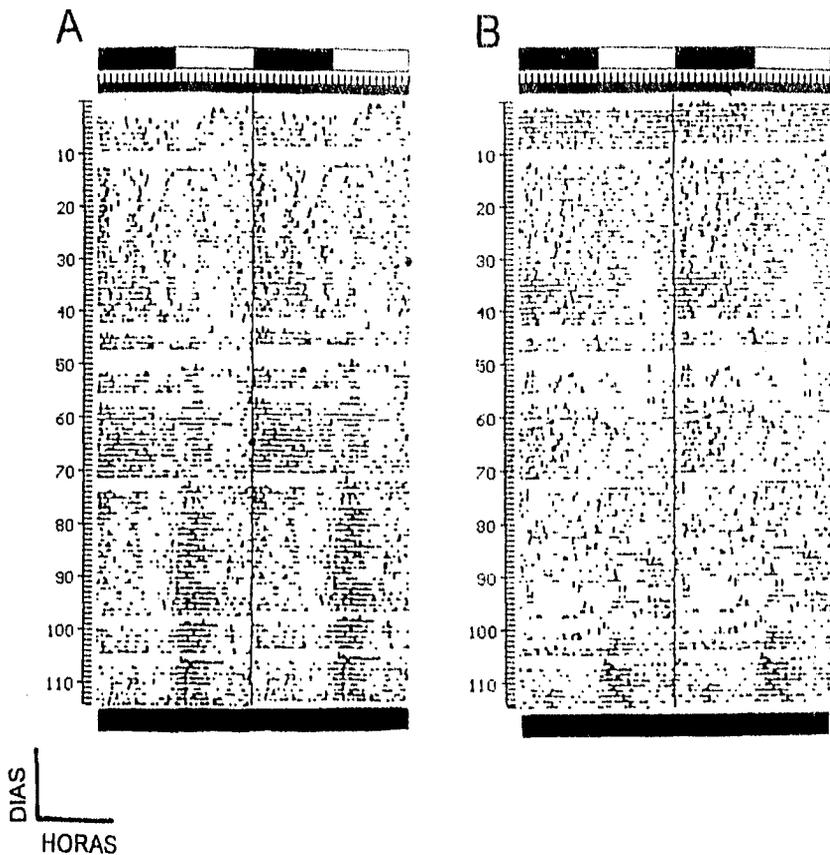
1.95, este efecto descendente sugiere que la sincronización del ritmo es cada vez más eficiente. En cambio los sujetos malnutridos presentan a los 30 días un valor de labilidad de  $1.77 \pm 1.05$ , a los 90 días es de  $1.41 \pm 1.28$  y a los 120 días es de  $5.80 \pm 1.19$ , lo cual nos sugiere que a estos sujetos les cuesta trabajo sincronizarse al ciclo de iluminación (fig. 16) (resultados resumidos en la tabla VI).



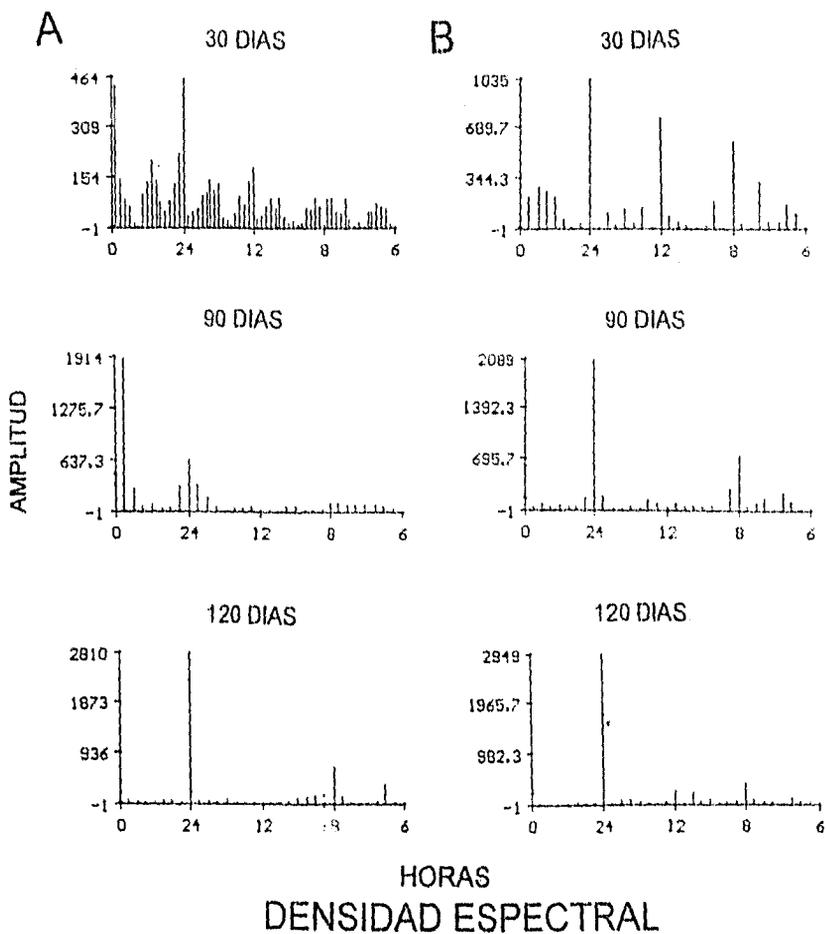
**FIGURA 5** Actograma del registro conductual de ingesta de agua para dos sujetos control, en el que se observa la gradual formación de un bloque de actividad, así como su ajuste de fase progresivo al ciclo de luz-obscuridad.



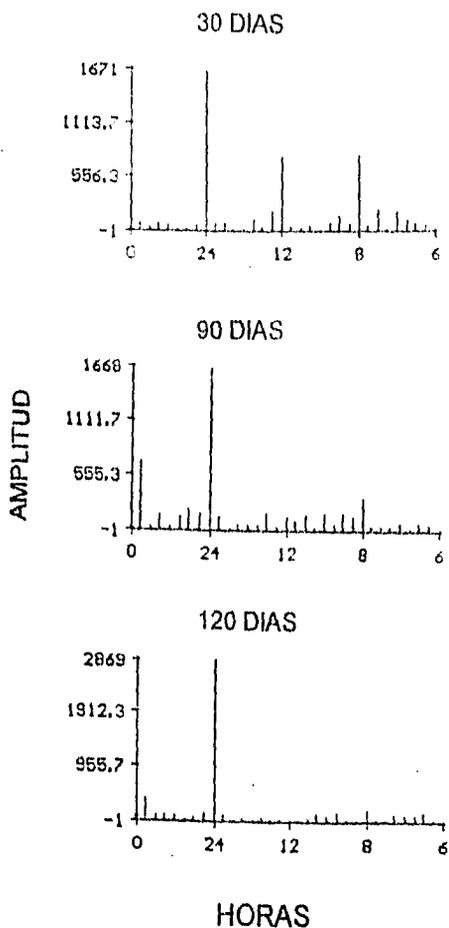
**FIGURA 6** Actograma doble plot del registro conductual de ingesta de agua para dos sujetos malnutridos (A y B), en el que se observa la ausencia de la formación de un bloque de actividad; la presencia de componentes ultradianos en oscilación espontánea, así como a los 100 días de edad la presencia de la partición de alfa.



**FIGURA 7** Actograma doble plot del registro conductual de ingesta de agua para dos sujetos malnutridos (A y B), en la figura A a los 100 días de edad se observa la presencia de la partición de la fracción de actividad, en la figura B un registro de actividad de un sujeto malnutrido que no presento partición pero se observo un patron arritmico.

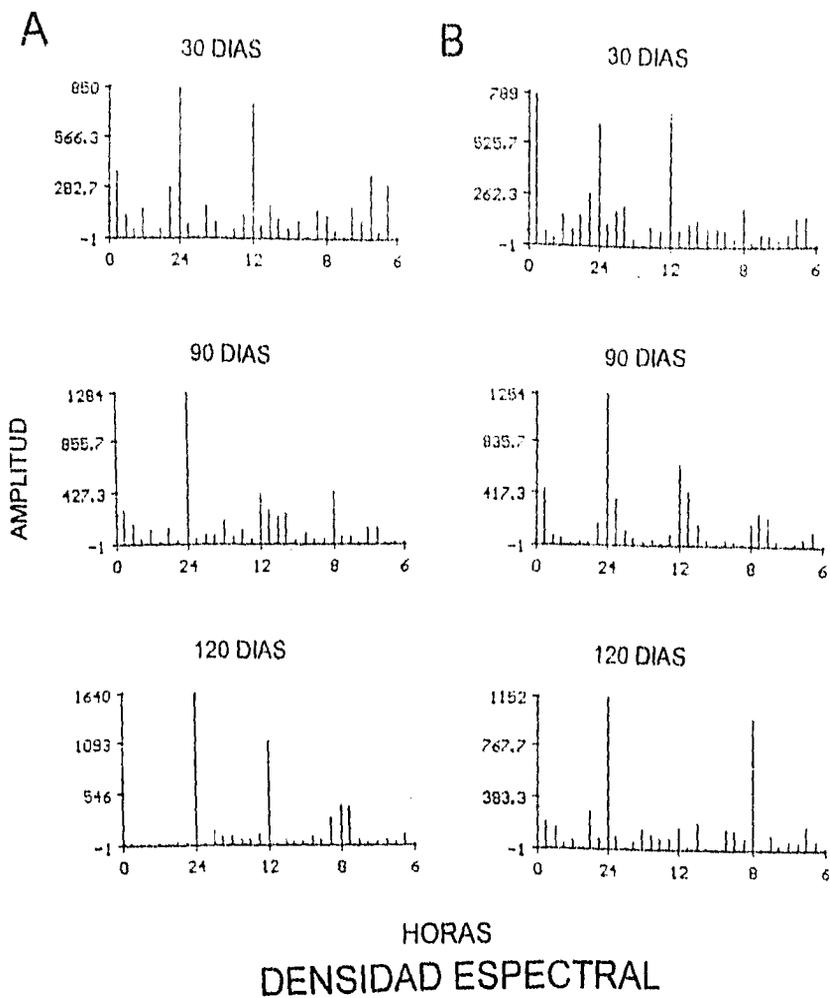


**FIGURA 8** Densidad Espectral de dos sujetos control (A y B) a los 30, 90 y 120 días, en los que se advierte la gradual desaparición de los componentes ultradianos e infradianos, así como el aumento progresivo de la amplitud del componente circádicos

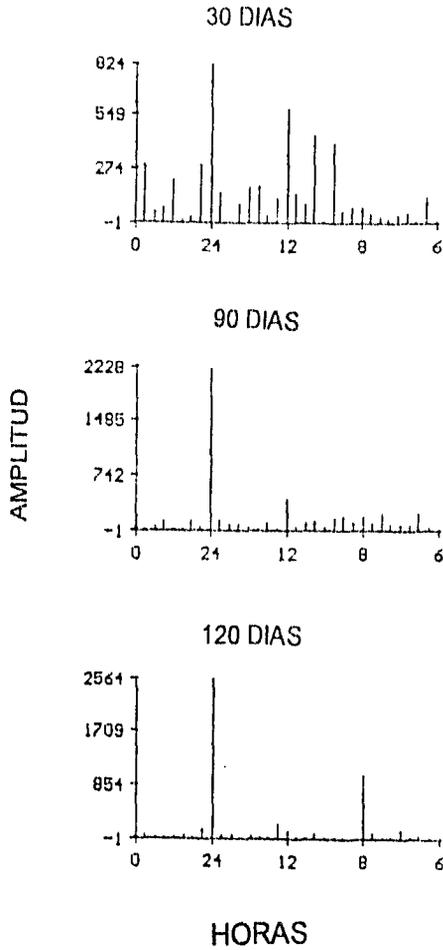


## DENSIDAD ESPECTRAL

**FIGURA 8** Densidad Espectral de un sujetos control a los 30, 90 y 120 días, en los que se advierte la gradual desaparición de los componentes ultradianos e infradianos, así como el aumento progresivo de la amplitud del componente circádicos

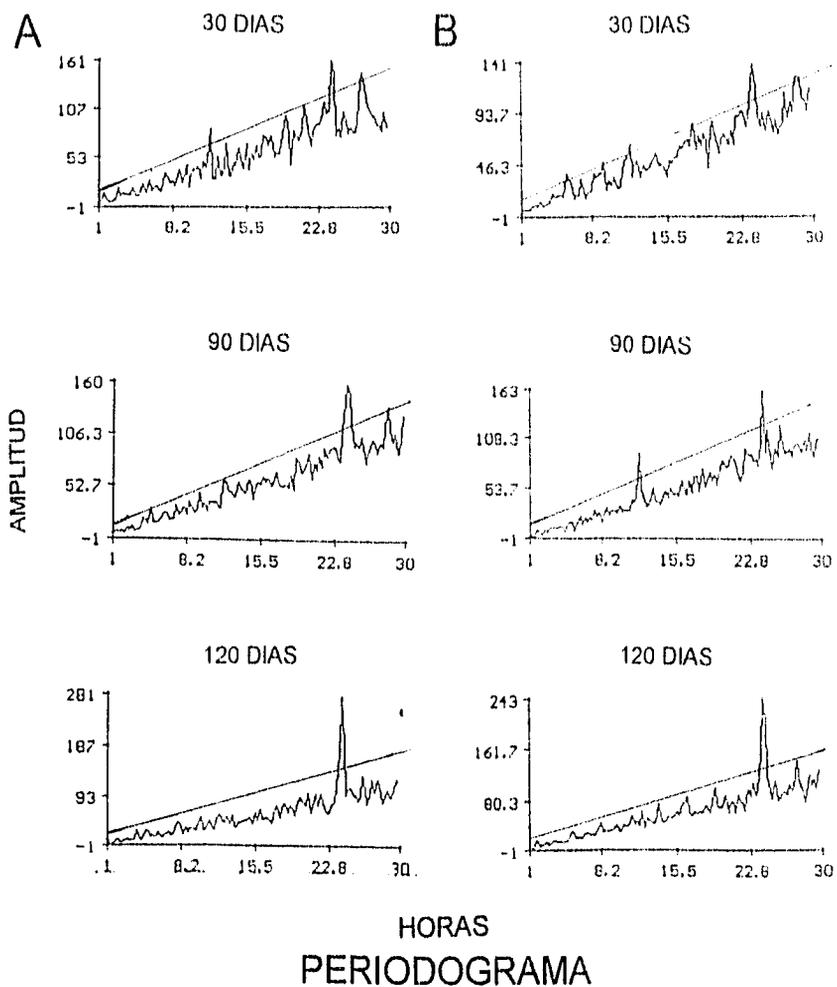


**FIGURA 9** Densidad espectral de dos sujetos malnutridos (A y B) a los 30, 90 y 120 días de edad, en las que se hace evidente la presencia de los dos componentes detectados en los actogramas de actividad de estos sujetos.

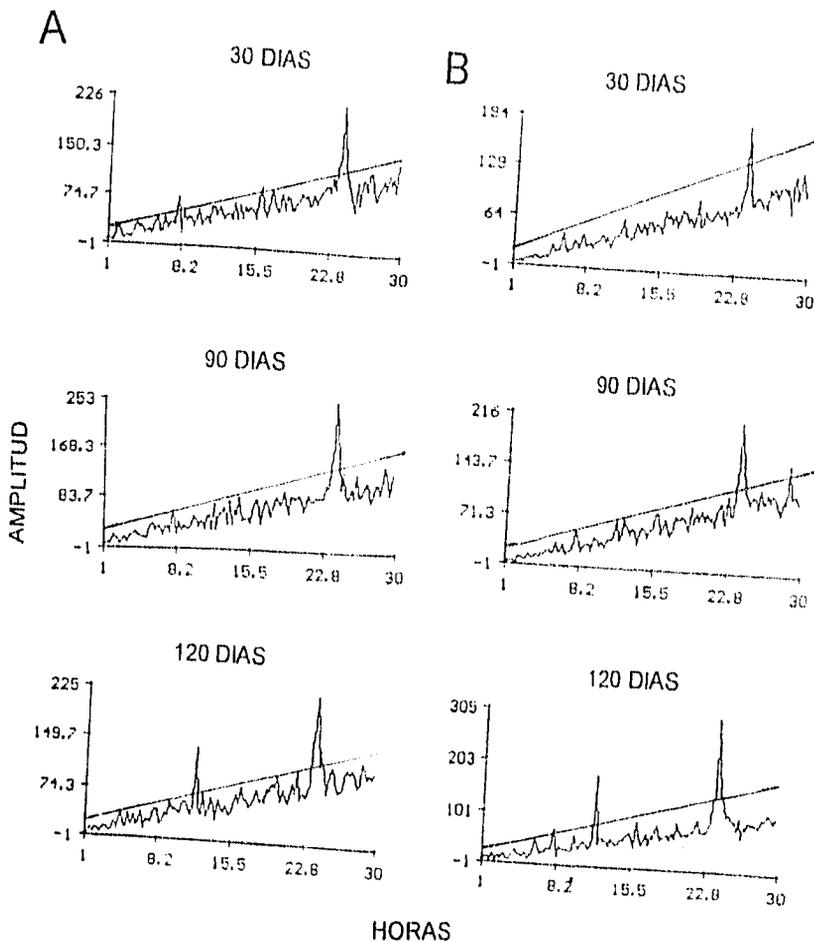


## DENSIDAD ESPECTRAL

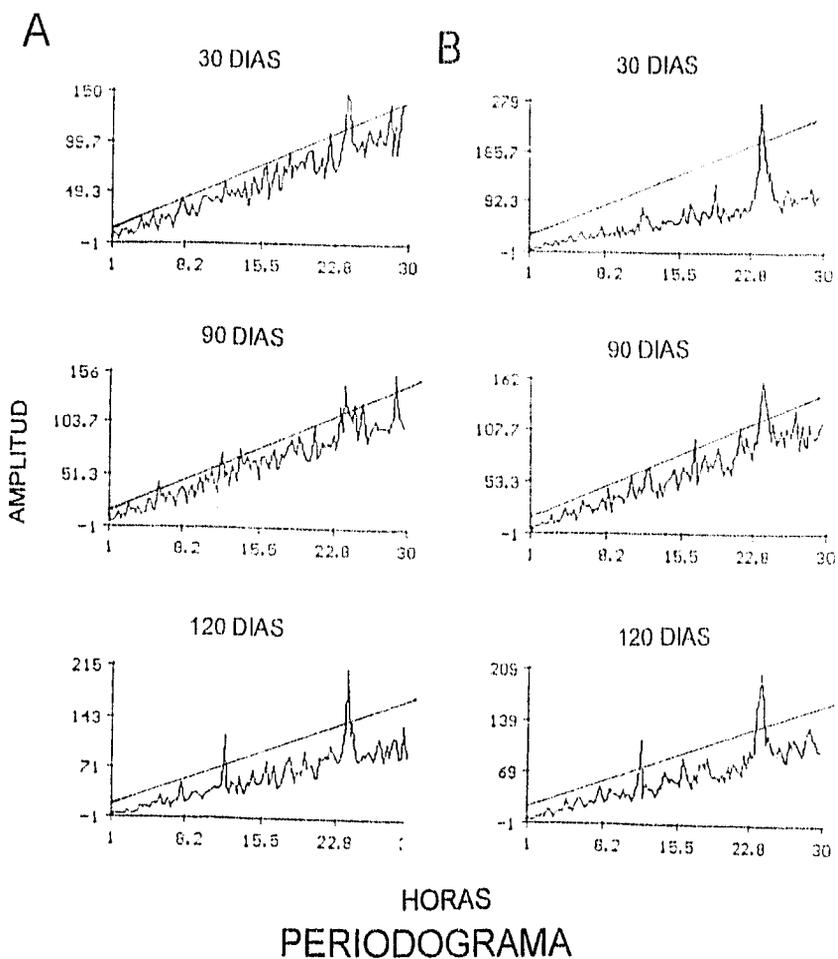
**FIGURA 9** Densidad espectral de un sujetos malnutridos (A y B) a los 30, 90 y 120 días de edad, en la que se hace evidente la presencia de los dos componentes detectados en los actogramas de actividad de estos sujetos.



**FIGURA 10** Periodograma  $X^2$  de dos sujetos control (A y B) a lo 30, 90 y 120 días de edad, en los que se observa la gradual desaparición de los componentes ultradianos e infradianos y la aparición progresiva de un claro componente en el rango circádico.

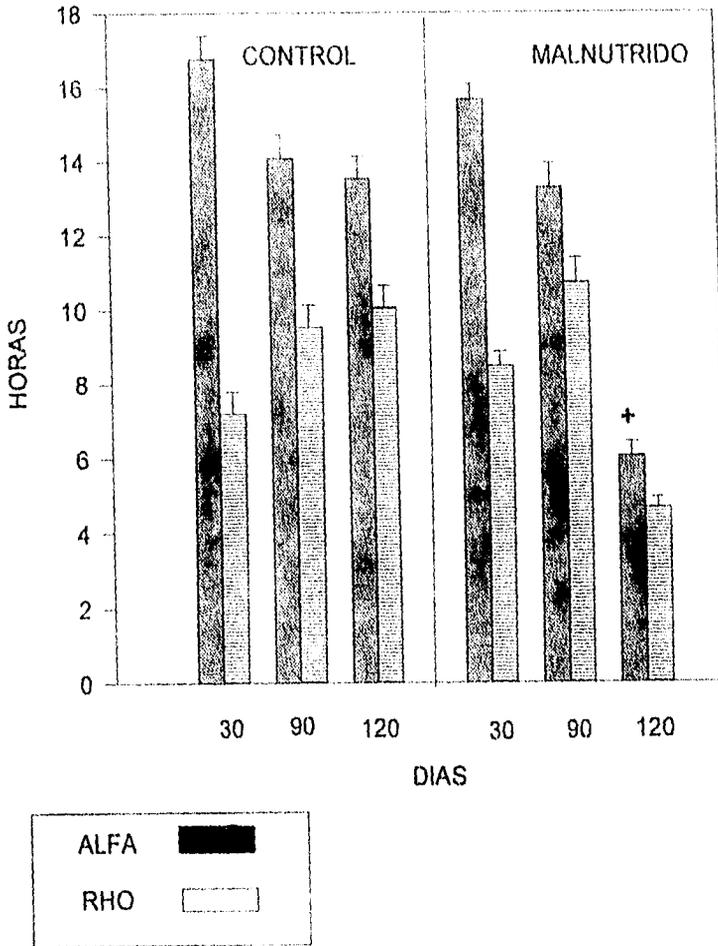


**PERIODOGRAMA**  
**FIGURA 11** Periodograma  $\chi^2$  de dos sujetos malnutridos (A y B) a los 30, 90 y 120 días de edad, en los que se observa la presencia de componentes ultradianos e infradianos los cuales no desaparecen a los 30 y 90 días de edad, finalmente a los 120 días aparecen dos claros componentes, uno en el rango circádico y otro en el rango ultradiano.



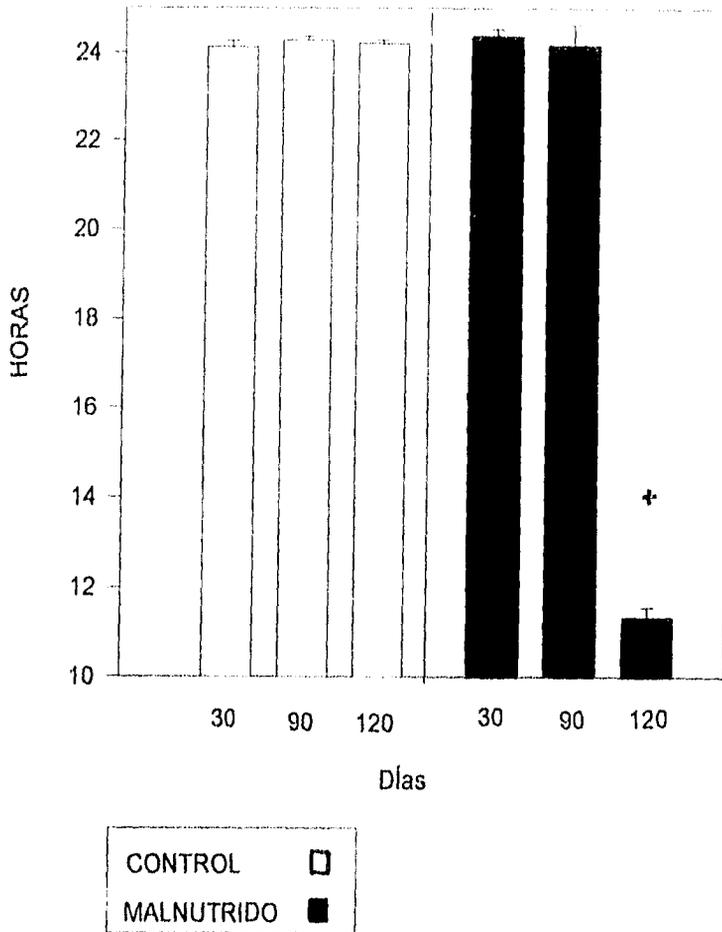
**FIGURA 11** Periodograma  $X^2$  de dos sujetos malnutridos (A y B) a los 30, 90 y 120 días de edad, en los que se observa la presencia de componentes ultradianos e infradianos los cuales no desaparecen a los 30 y 90 días de edad, finalmente a los 120 días aparecen dos claros componentes, uno en el rango circádico y otro en el rango ultradiano.

### ARQUITECTURA DEL RITMO CIRCADICO

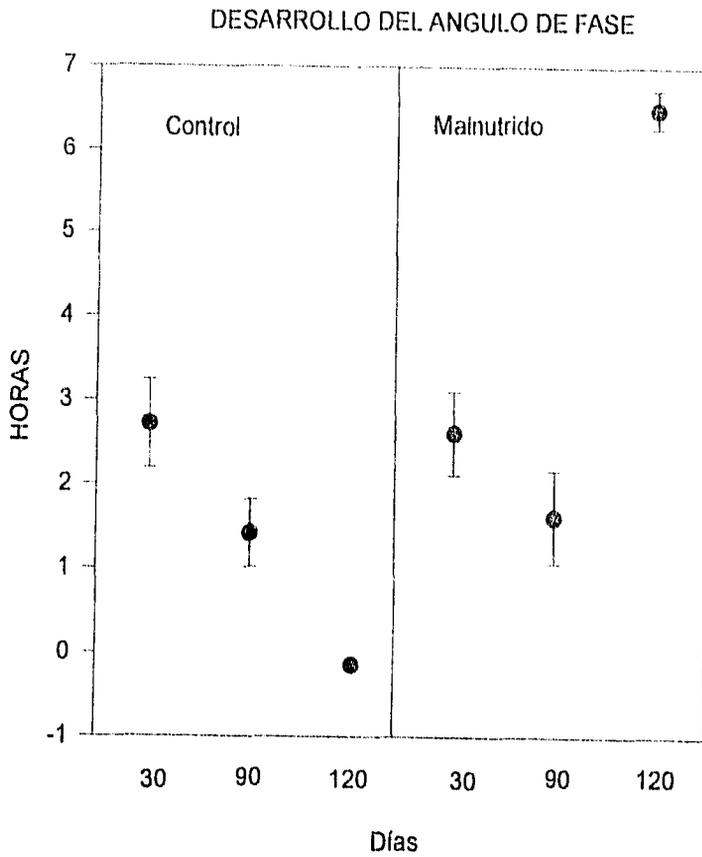


**FIGURA 12** Valor en horas de la actividad y reposo en las tres edades en estudio bajo un ciclo L-O; los sujetos control presentaron un gradual decremento de la fracción de actividad y un aumento en la fracción de reposo, en cambio los sujetos malnutridos alfa disminuyó significativamente a los 120 días de edad.

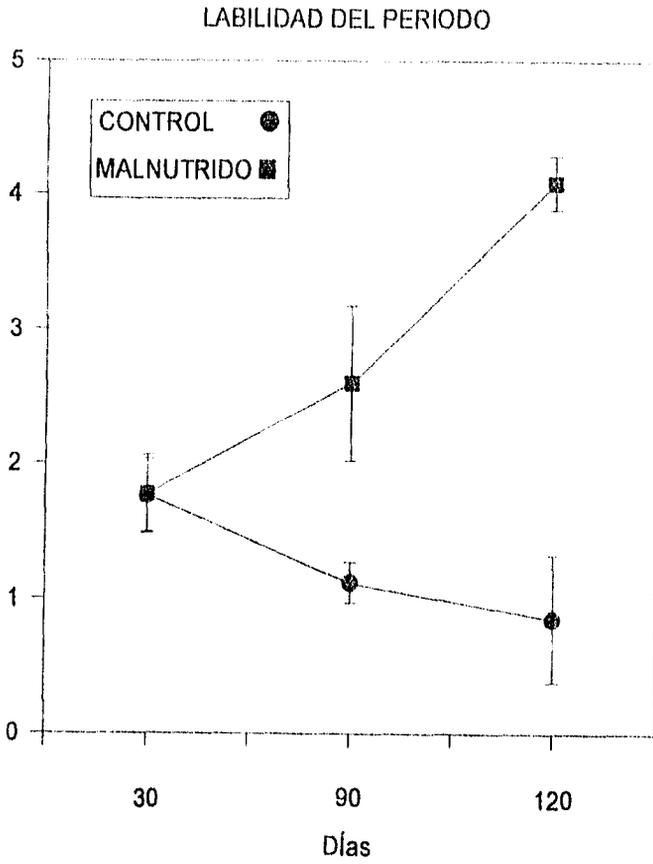
### DESARROLLO DEL PERIODO EN SINCRONIZACION



**FIGURA 13** Desarrollo del periodo en horas a los 30, 90, 120 días de edad, los sujetos control presentan un valor similar a las tres edades, en cambio, los sujetos malnutridos presentan una reducción significativa del valor del periodo a los 120 días de edad.

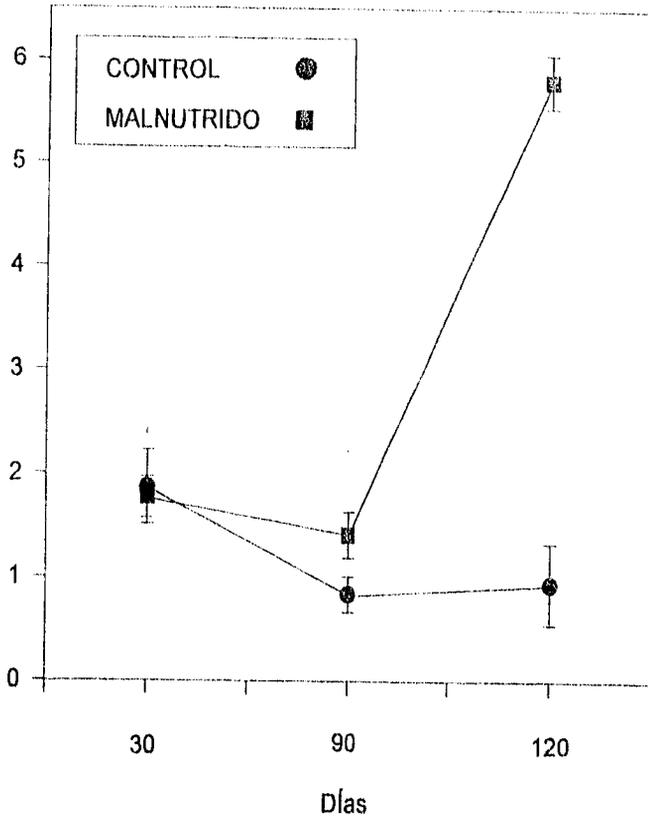


**FIGURA 14** Gráfica del desarrollo del ajuste de fase para las tres edades estudiadas, en los sujetos control se observa la disminución gradual del valor del ajuste de fase, en cambio, los sujetos malnutridos presentan un aumento significativo del valor del ajuste de fase a los 120 días de edad.



**FIGURA 15** Labilidad del periodo para las tres edades, en la que se observa la gradual disminución del valor de la labilidad en los sujetos control, en contraste con el aumento del valor de la labilidad en los sujetos malnutridos.

### LABILIDAD DEL ANGULO DE FASE



**FIGURA 16** Labilidad del ángulo de fase para los 30, 90 y 120 días de edad, en la que se observa la disminución progresiva del valor de la labilidad de el ajuste de fase en los sujetos control, en cambio, los sujetos malnutridos aumentó significativamente el valor de la labilidad de el ajuste de fase a los 120 días de edad.

Condicion	Dias	Actividad	Reposo	Periodo	Angulo de Fase
	30	16.77±2.48	7.21±2.33	24.13±0.59	+2.72±2.10
Control	90	14.08±2.5	9.53±2.33	23.88±0.33	+1.42±1.58
	120	13.54±1.77	10.06±1.74	23.82±0.24	-0.14±0.09

Condicion	Dias	Actividad	Reposo	Periodo	Angulo de Fase
	30	15.67±2.04	8.46±2.05	24.39±0.81	+2.61±2.58
Desnutrido	90	13.28±3.37	10.72±3.41	24.17±2.42	+1.62±2.83
	120	6.05±1.72	4.66±1.26	11.34±1.08	+6.5±1.03

TABLA III -- Valores promedio de las fracciones de actividad, reposo, periodo, y ajuste de fase para los 30, 90 y 120 días de edad en los sujetos control y malnutridos.

Condicion	Dias	Actividad	Reposo	Periodo	Angulo de Fase
	30	2.14±0.82	1.89±0.87	1.76±1.1	1.87±1.5
Control	90	1.50±0.72	1.55±0.62	1.12±0.57	0.84±0.65
	120	2.07±1.43	1.81±1.21	0.85±1.42	0.94±1.95

Condicion	Dias	Actividad	Reposo	Periodo	Angulo de Fase
	30	2.36±1	2.47±1.48	1.77±1.53	1.77±1.05
Desnutrido	90	2.72±1.91	3.15±2.95	2.60±3.07	1.41±1.28
	120	3.73±1.29	3.00±1.3	4.09±0.93	5.80±1.19

TABLA IV -- Valores promedio de la labilidad de las fracciones de actividad, reposo, periodo, y ajuste de fase para los 30, 90 y 120 días de edad en los sujetos control y malnutridos.



Este estudio se realizó con el fin de analizar las características del periodo endógeno (Free Running) del ritmo de ingesta de agua en ratas de ambos sexos y de ambas condiciones nutricionales bajo condiciones constantes.



El examen visual de los actogramas de los sujetos control registrados en obscuridad continua nos muestra un bloque de actividad bien definido el cual se encuentra en oscilación espontánea, además no se observan componentes transitorios en los registros conductuales. La duración de alfa se mantuvo constante, con un valor de 12.98 hrs así como la duración de la fracción de reposo (10.9 hrs.), la fase de inicio de alfa (onset) se presentó bastante bien definida (fig 17).

Los sujetos malnutridos mostraron al inicio de la condición constante dos o más bloques de actividad en oscilación espontánea, los cuales al paso de los días de registro se van compactando hasta formar uno solo, (fig. 18) la duración de alfa en esta condición se presenta variable (13.31 hrs.), así como su relación con la fracción de reposo (10.90 hrs). La fase de inicio de alfa en estos sujetos en algunos casos era muy variable dando la impresión que el ritmo en oscilación espontánea sufría constantes adelantos y retrasos de fase, aun cuando alfa se observaba como un solo bloque éste no era muy condensado sino que parecía un poco fragmentado teniendo algunos espacios de reposo en ella (fig. 19).

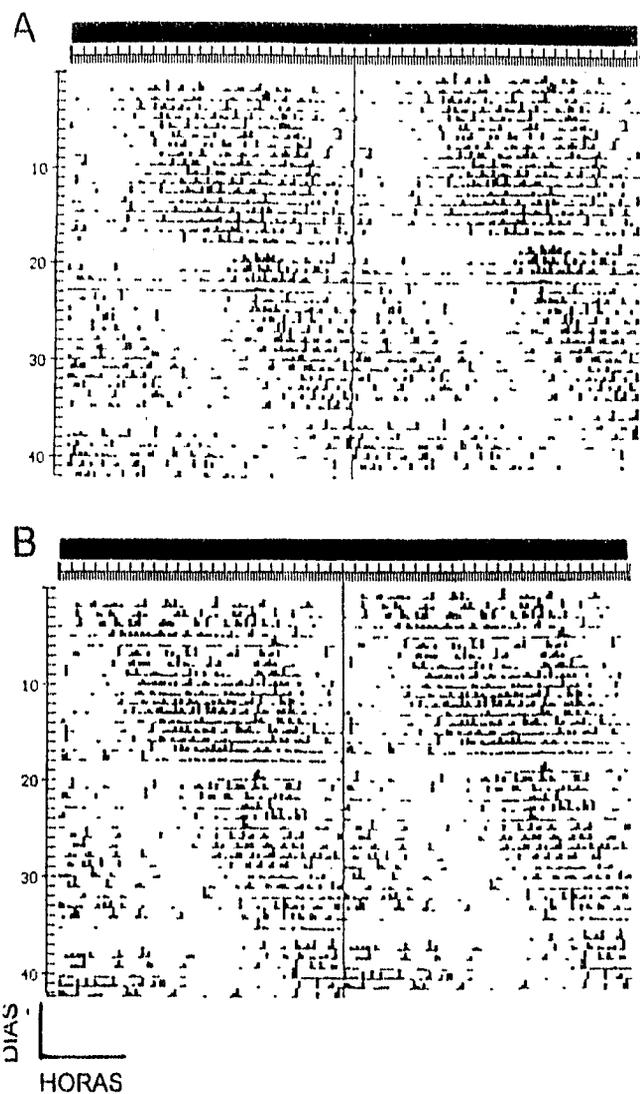
El análisis gráfico de los datos anteriores indicaron que los sujetos control presentaron un periodo endógeno promedio de 24.25±00:14 (Media+SD; Horas:Min.), en cambio los sujetos desnutridos presentaron un promedio de 24.34±00:16 (Media+SD; Horas:Min ).

En la figura 20 se presenta graficado el promedio de la desviación del periodo de 24 00 horas en minutos contra el grupo; se puede observar que los sujetos malnutridos presentan una tendencia a alejarse de las 24 horas, la diferencia entre el grupo control y experimental fue significativa ( $t=2.93$ ,  $df=38$ ,  $p 0.05$ ).

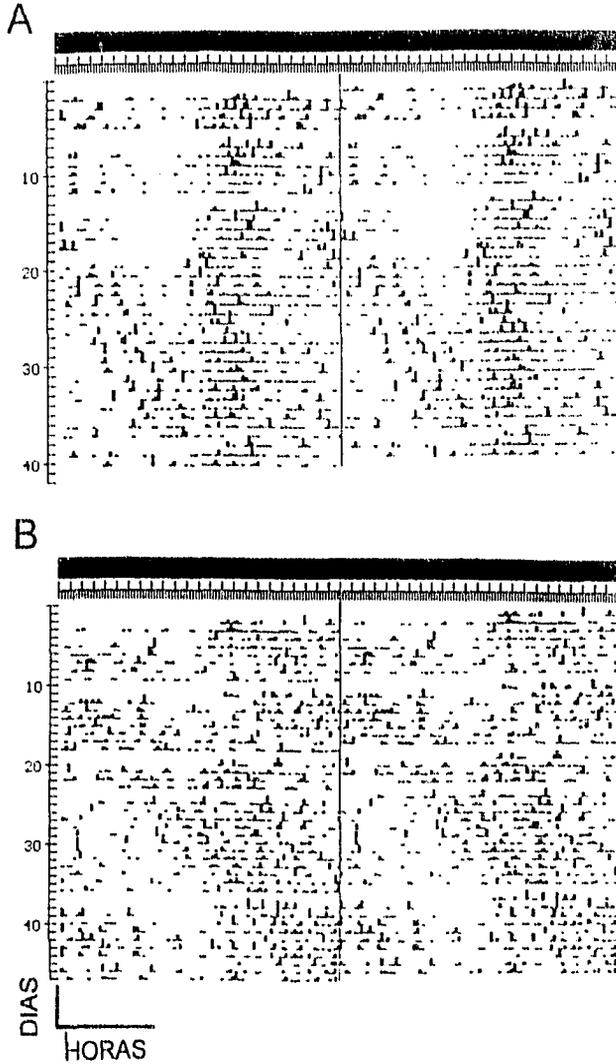
El análisis de periodograma de  $X^2$  nos indica que los sujetos control presentaron un claro ritmo, el cual puede ser observado como un componente significativo en el rango circádico. La densidad espectral nos confirma lo anterior, en ambos análisis se observa la ausencia de componentes en el rango ultradiano e infradiano. (fig 21)

En cambio los sujetos desnutridos presentaron dos componentes, en ambos análisis, al inicio del registro en condiciones constantes, los cuales desaparecieron conforme avanzaba el registro conductual, sin embargo tanto el periodograma como la densidad espectral mostraban alteraciones en estos sujetos, observadas como brotes de actividad de relativa amplitud en el rango ultradiano (fig 22).

Sin embargo conforme avanzó la edad, los sujetos malnutridos en obscuridad constante evidenciaron un fuerte componente circádico, aun cuando seguían presentándose alteraciones en el rango ultradiano (fig 23).

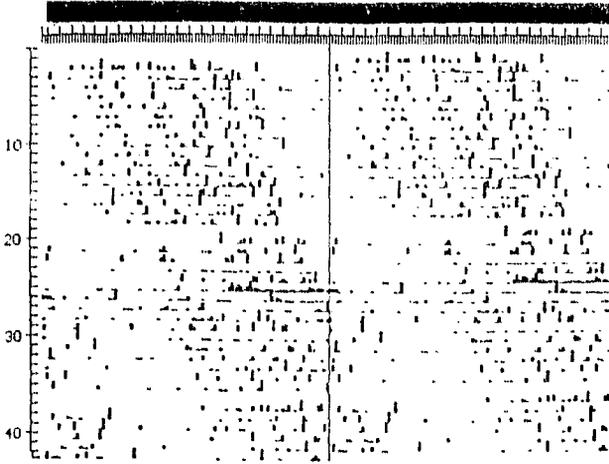


**FIGURA 17** Actograma de la conducta de ingesta de agua de dos sujetos control en condiciones constantes (O:O), en los que se observa un claro ritmo en oscilación espontánea.

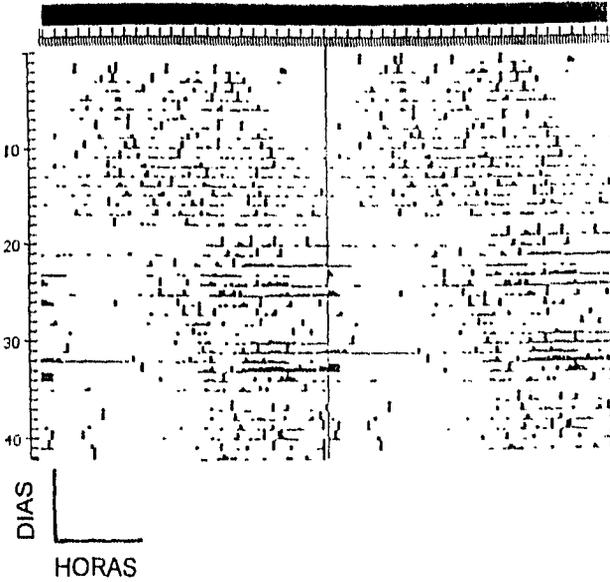


**FIGURA 18** Actograma de la conducta de ingesta de agua de dos sujetos malnutridos (A y B) en oscuridad continua; acercamiento de los primeros días de registro en donde es evidente la presencia de dos componentes con diferente periodo los cuales despues de unos días de registro en O:O se compactan en uno solo.

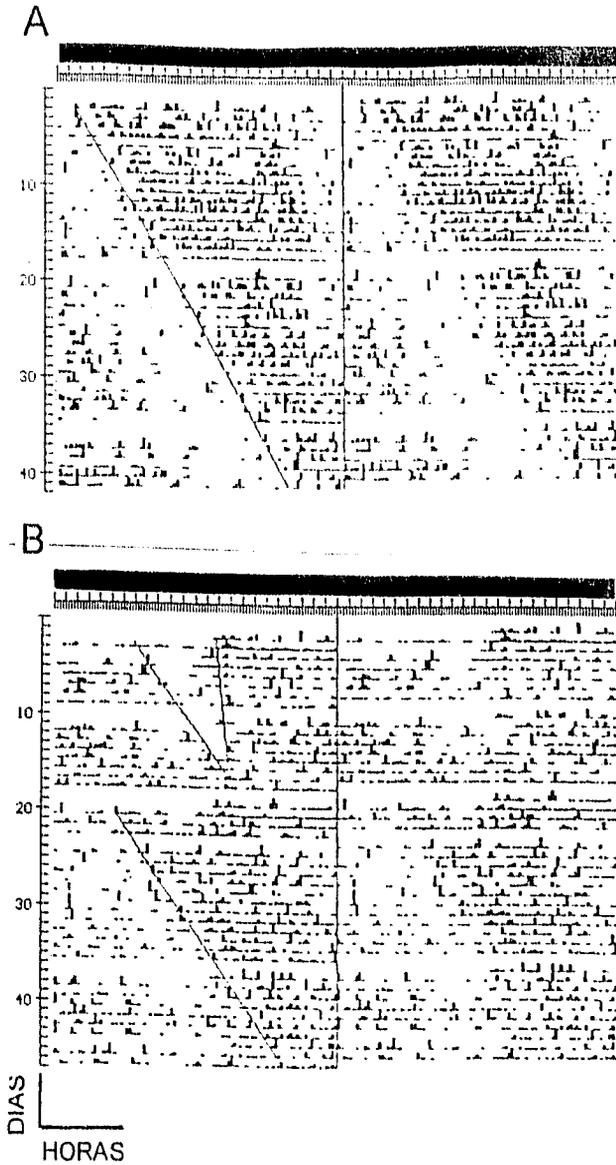
A



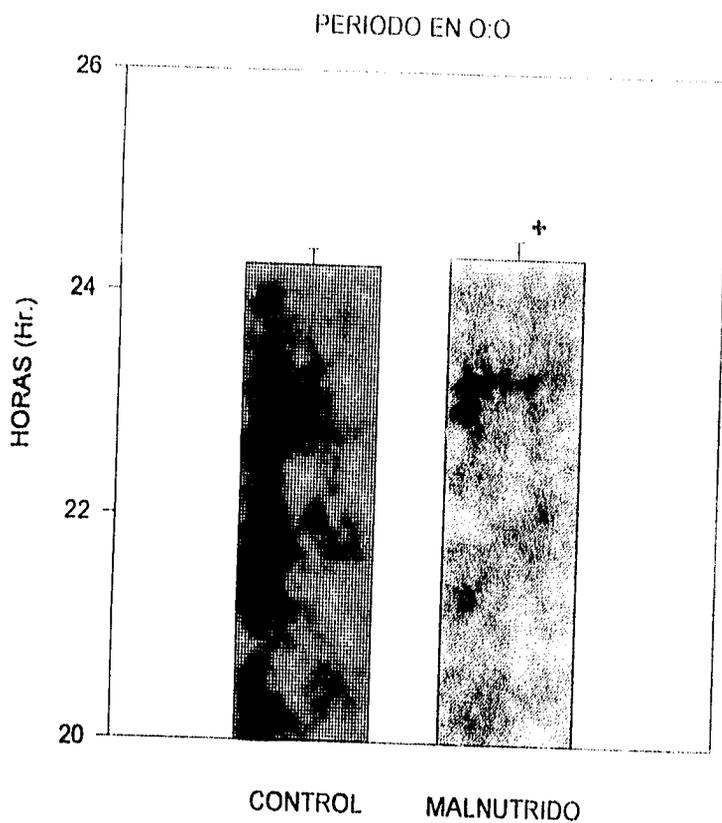
B



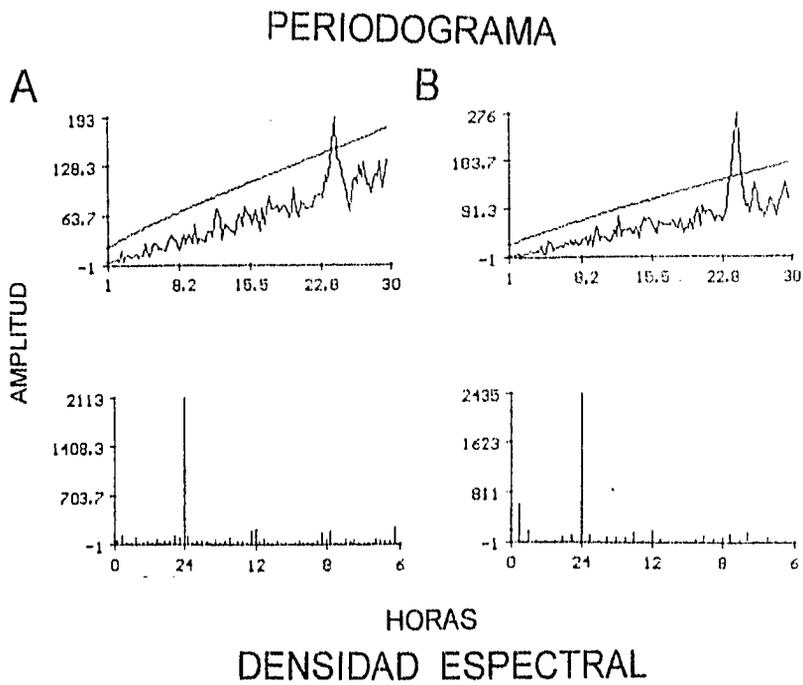
**FIGURA 19** Actograma de la conducta de ingesta de agua de dos sujetos malnutridos (A y B) en condiciones constantes, en donde se presenta el ritmo endógeno.



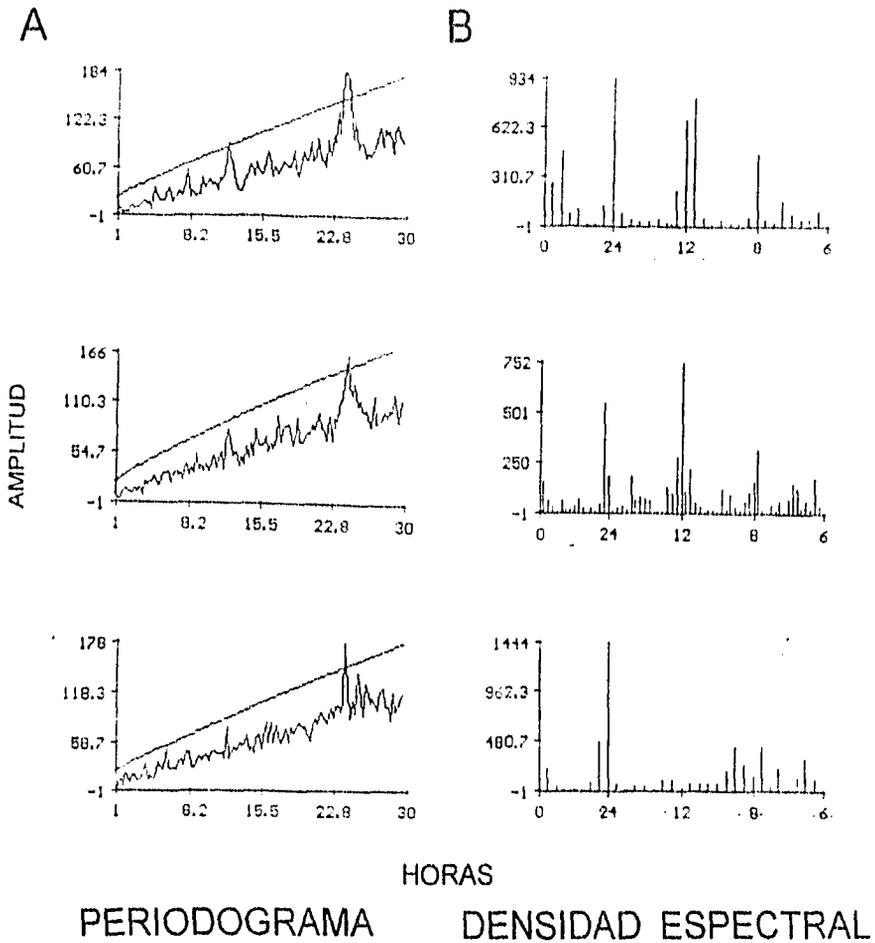
**FIGURA 19a** Actograma de la conducta de ingesta de agua de dos sujeto en condiciones constantes, en los que se presenta por medio de líneas los periodos de los componentes en oscilación espontánea (A-control) y finalmente el periodo único cuando se compactan en un solo bloque (B-malnutrido)



**FIGURA 20** Gráfica del valor en horas del periodo endógeno en sujetos control y malnutridos.

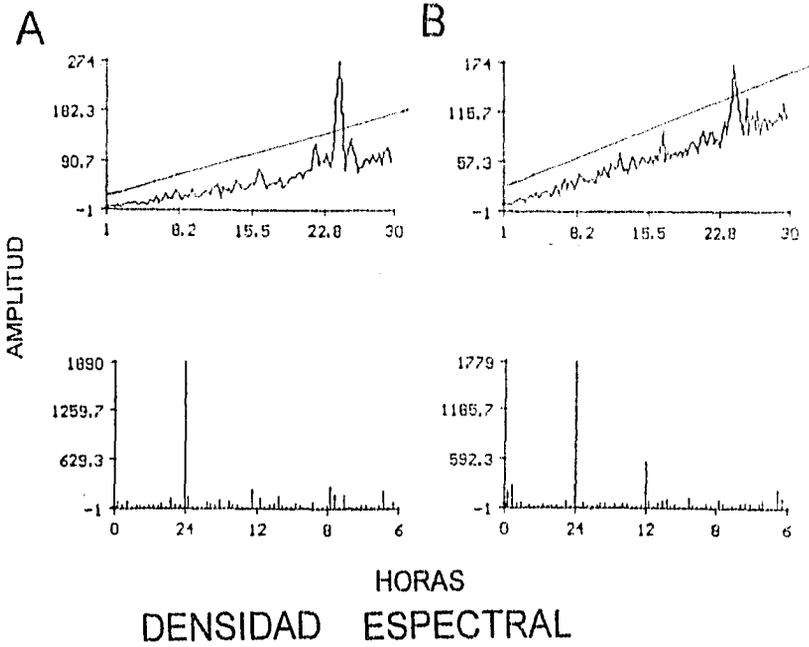


**FIGURA 21** Análisis de densidad espectral y periodograma X2 de dos sujetos control (A y B) en los que se observa un claro componente circádico en ambos análisis.



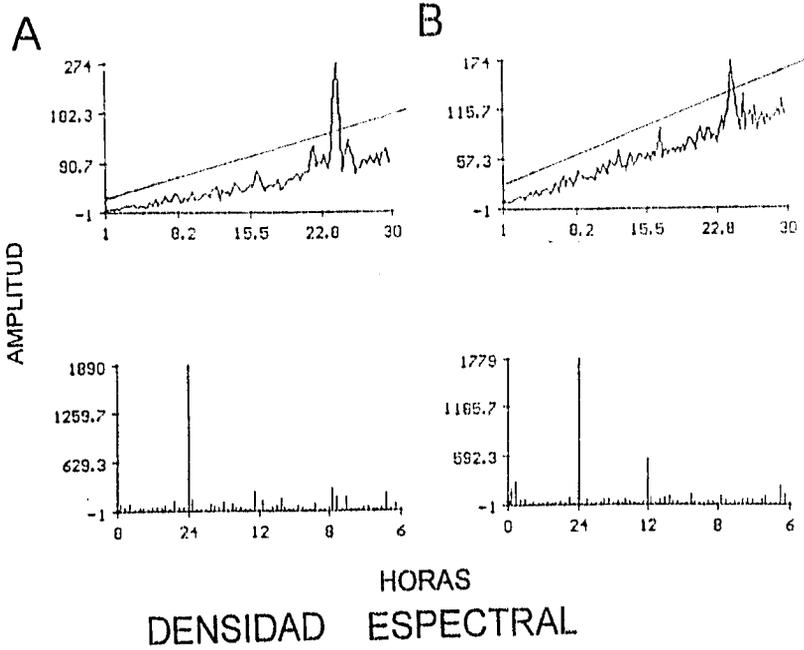
**FIGURA 22** Análisis de Densidad Espectral y Periodograma  $\chi^2$  de un sujeto malnutrido, en los primeros días de registro en obscuridad continua, en donde se demuestra primero la presencia de dos componentes los cuales van desapareciendo, para que finalmente solo sea evidente el componente circádico en ambos análisis

# PERIODOGRAMA



**FIGURA 23** Análisis de densidad espectral y periodograma  $X^2$  de dos sujetos malnutridos (A y B) en obscuridad continua en donde se observa un claro componente circádico, aunque también se observa algún componente en el rango ultradiano (B).

# PERIODOGRAMA



**FIGURA 23** Análisis de densidad espectral y periodograma  $X^2$  de dos sujetos malnutridos (A y B) en oscuridad continua en donde se observa un claro componente circádico, aunque también se observa algún componente en el rango ultradiano (B).



Este experimento se realizó con el fin de estudiar la sincronización del ritmo de ingesta de agua a un nuevo ciclo de luz-oscuridad 12:12.



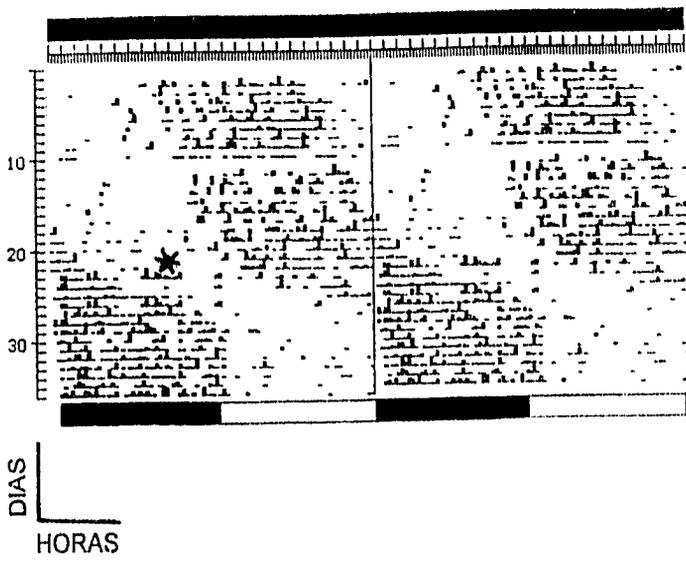
El examen visual de los actogramas de los sujetos control al inicio del experimento mostraban que la fracción de actividad, antes de iniciado el fotoperiodo, se encontraba en oscilación espontánea, después de iniciado el estímulo luminoso (L:O 12:12) se observaban algunos componentes en oscilación espontánea, presentando algunos días en fase transitoria antes de poder establecer una relación de fase estable entre el inicio de la actividad y el inicio de la fase de oscuridad del fotoperiodo, siendo cada vez más preciso para finalmente mostrar una clara sincronización al fotoperiodo usado (fig 24).

En cambio los sujetos malnutridos no mostraban un ritmo en oscilación espontánea al inicio de la manipulación y después de iniciado el fotoperiodo parecía que respondían inmediatamente y establecían una relación de fase estable, de esta manera, no se observaban días transitorios entre el inicio del fotoperiodo y la respuesta del sujeto (fig 25).

El proceso de sincronización, después de establecerse, es estable y no se observan variaciones en la fase de inicio de alfa.

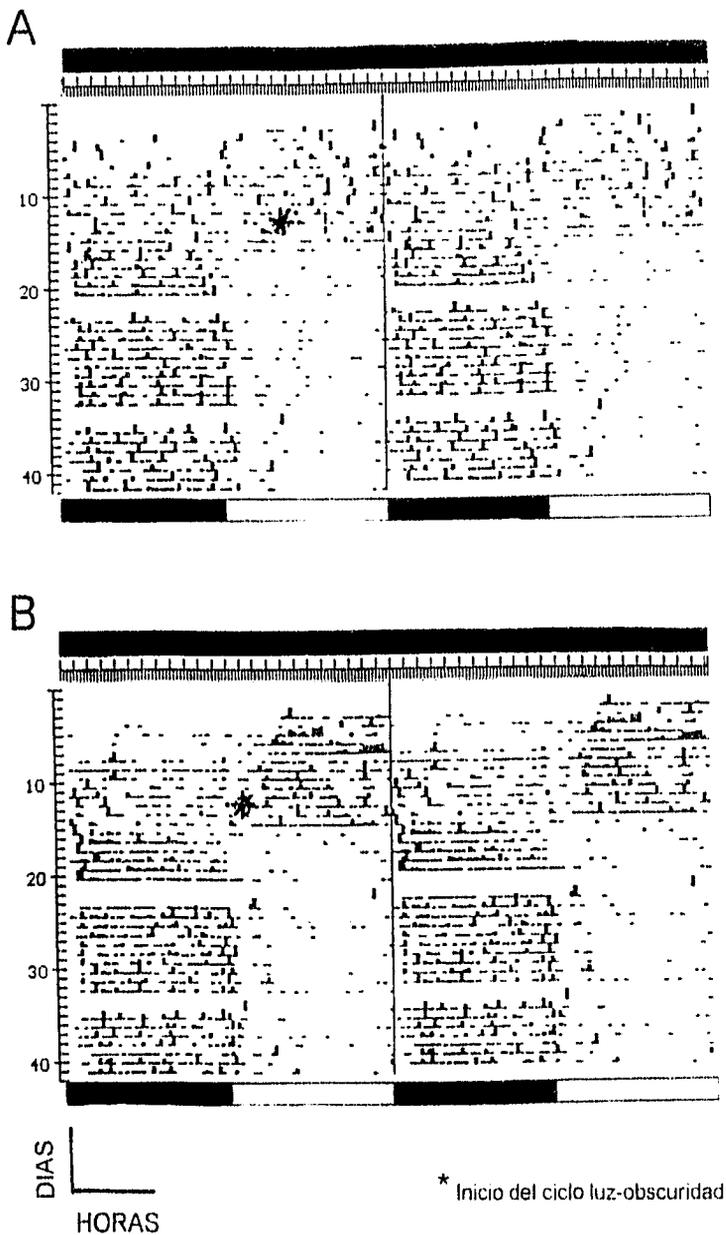
El análisis de latencias reveló que en el caso de los sujetos control presentaron un valor promedio de  $6.9 \pm 2.6$  días para poder sincronizarse al fotoperiodo en cambio los sujetos malnutridos presentaron un valor promedio de  $2.6 \pm 0.5$  días.

En la figura 26 se muestran graficados estos resultados, en la que se puede observar esta diferencia en días en la sincronización al fotoperiodo completo, esta diferencia fue significativa ( $t=6.5$ ,  $df=20$ ,  $p<0.05$ ). Estos datos hacen contomplar la posibilidad de un proceso de enmascaramiento en la respuesta de los sujetos malnutridos al fotoperiodo.

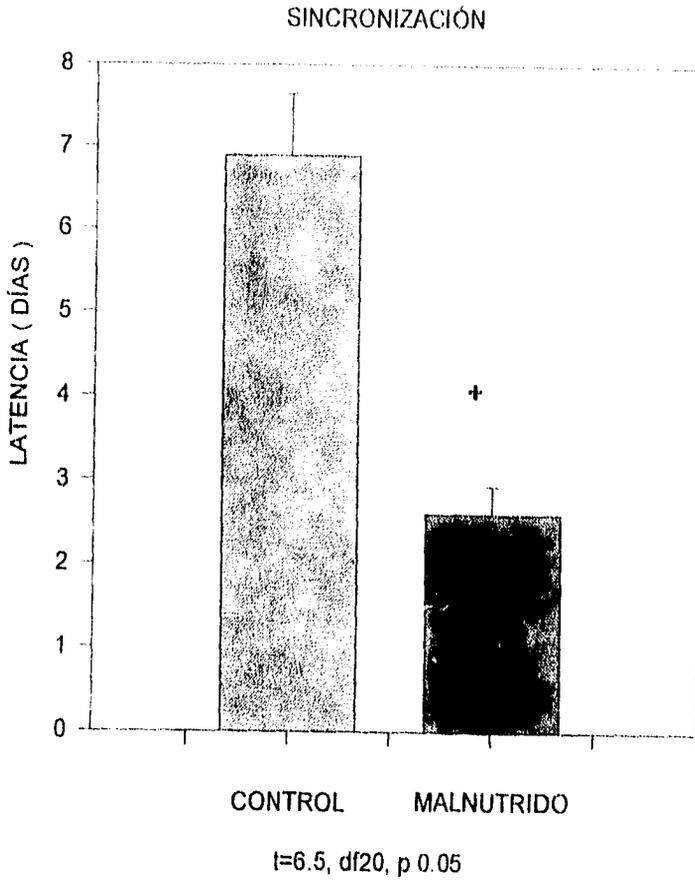


\* Inicio del ciclo luz-obscuridad

FIGURA 24 Actograma de la conducta de ingesta de agua de un sujeto control, el cual se encontraba en O:O y se le colocó un ciclo luz-obscuridad 12:12, se observan los ciclos transitorios antes de sincronizarse al fotoperiodo.



**FIGURA 25** Actograma de la conducta de la conducta de ingesta de agua de dos sujetos malnutridos (A y B), los cuales se encontraban en condiciones constantes y posteriormente se les aplicó un fotoperiodo 12:12, estos sujetos respondieron



**FIGURA 26** Gráfica de la latencia, medida en días, que tardan ambos grupos experimentales en sincronizarse a un ciclo L-O, el valor de la latencia en los sujetos malnutridos es significativo en comparación al grupo control.



El experimento se llevó a cabo con el fin de determinar el efecto de enmascaramiento utilizando un fotoperiodo esqueleto.



El examen visual de los actogramas nos muestra que antes de aplicar el fotoperiodo esqueleto, todos los sujetos control en registro mostraban un ritmo en oscilación espontánea, al iniciar este fotoperiodo dichos sujetos mostraban algunos días de transitorios antes de sincronizarse al fotoperiodo esqueleto. esta condición se mantenía por el resto del registro (fig 27).

El análisis de la latencia de la sincronización reveló un valor muy similar al valor de sincronización al fotoperiodo completo,  $6.1 \pm 3.1$  días (Media  $\pm$  SD)

En cambio los sujetos malnutridos mostraron que el ritmo en oscilación espontánea persistió por más tiempo, aún después de iniciado el estímulo luminoso, presentándose varios días de componentes transitorios que posteriormente eran compactados en un bloque de actividad. El ajuste de fase en estos sujetos, aunque se mostraban sincronizados, no era muy bueno ya que la fase de inicio de alfa (onset) en estos sujetos no mostraba una relación estable con el inicio de la oscuridad, en comparación con los controles en los que sí se establecía una estrecha relación de fase (fig 28).

El análisis de las latencias de sincronización reveló un valor de  $12.3 \pm 6.0$  días para los malnutridos el cual difiere al valor de la sincronización al fotoperiodo completo.

En la figura 29 se gráfica el grupo contra la latencia medida en días y muestra que los sujetos desnutridos tardan más días en promedio que los sujetos control en sincronizarse al fotoperiodo esqueleto y esta diferencia fue estadísticamente significativa. ( $t=-2.41$ ,  $df$  12,  $p$  0.05).

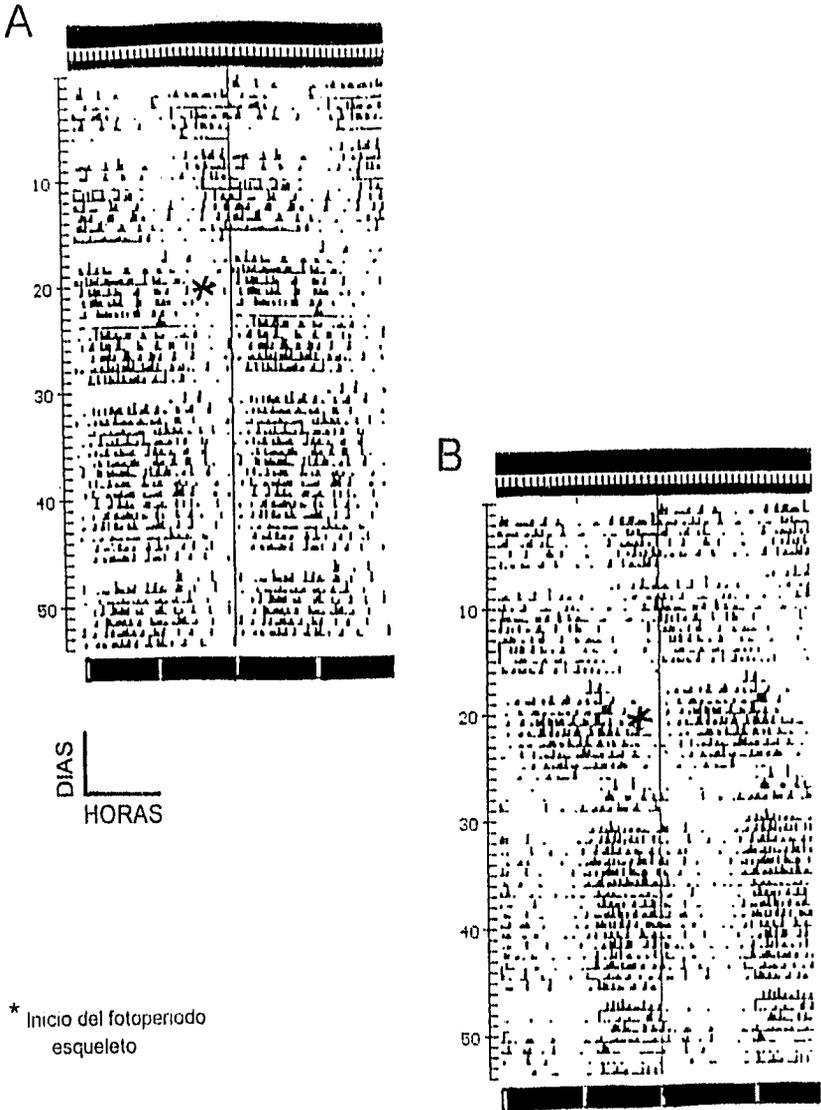
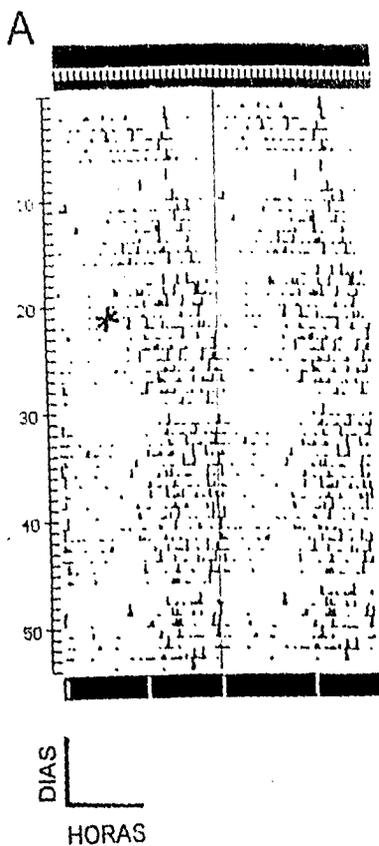
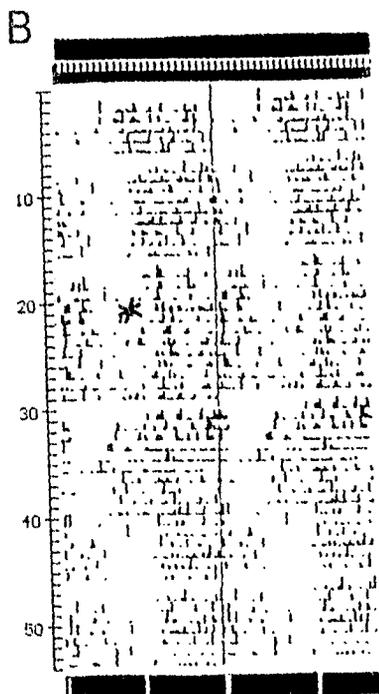


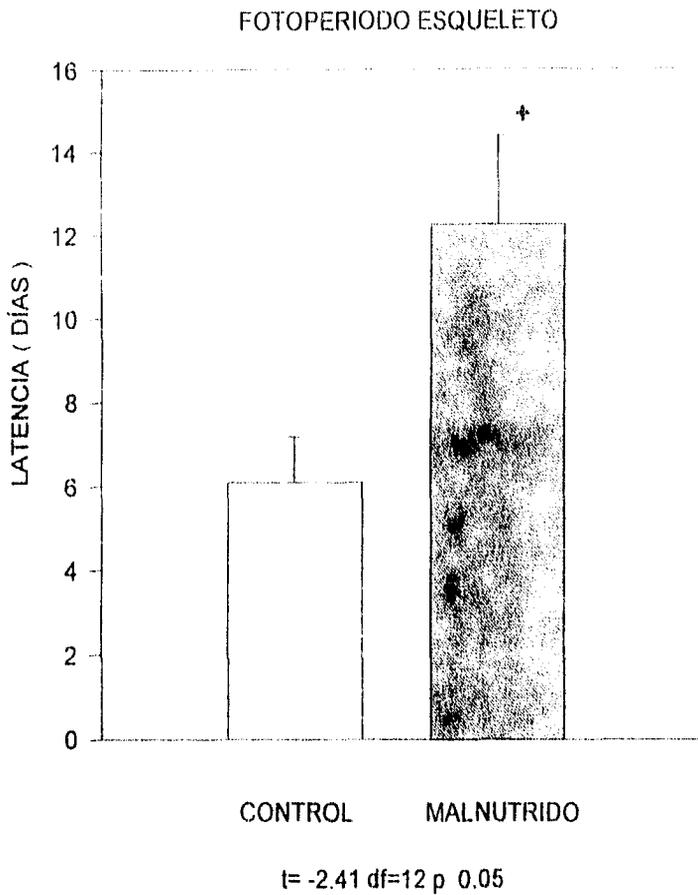
FIGURA 27 Octograma de la conducta de ingesta de agua en dos sujetos control (A y B) bajo un fotoperiodo esqueleto, en los que se observan los ciclos transitorios antes de sincronizarse a éste.



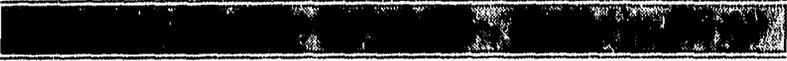
\* Inicio del fotoperiodo  
esqueleto



**FIGURA 28** Octograma de la conducta de ingesta de agua en dos sujetos malnutridos (A y B) en los que se observan los ciclos transitorios antes de poder sincronizarse al fotoperiodo esqueleto



**FIGURA 29** Gráfica del valor de la latencia, medida en días, que tardan ambos grupos experimentales en sincronizarse a un fotoperiodo esqueleto, el valor de la latencia de los sujetos malnutridos es significante.



## DESARROLLO DEL RITMO

Los sujetos control en los primeros días de registro (30 días de edad) se caracterizaron por que la arquitectura del ritmo circádico de ingesta de agua no estaba bien definida presentando varios componentes transitorios que posteriormente eran sincronizados al ciclo luz-oscuridad y se compactaban en un solo bloque de actividad. Esto es consistente con lo reportado anteriormente, en donde generalmente después de fluctuaciones polifásicas arrítmicas iniciales emergen gradualmente ritmos de 24 horas en donde los diferentes componentes del sistema circádico se van acoplado unos con otros (Rielveld, 1990). Aunado a que la duración de la fracción de actividad y reposo en los sujetos control se fue haciendo cada vez mas homogénea hasta los 120 días, en que ambas fracciones tenían una duración muy similar, lo cual también está relacionado a la hipótesis de que la aparición de un ritmo circádico implica la maduración del sistema con lo cual se incrementa gradualmente la amplitud de la oscilación (Davis, 1984; Pittendrigh, 1976), y precede a los mecanismos de sincronización, ya que este último proceso sólo ocurre cuando los órganos sensoriales y el SNC se han acoplado (Davis, 1984), esto puede ser observado en como el ajuste de fase gradualmente fue más preciso con el paso de la edad, hasta mostrar una clara sincronización al ciclo L:O.

Los resultados sobre el desarrollo del periodo a su vez indicaron que los sujetos control mostraban un claro ritmo circádico desde los 30 días de edad bajo un ciclo L:O y éste no varió a lo largo de todo el registro conductual del sujeto. El efecto más notable del desarrollo sobre el periodo sucede en su labilidad ya que ésta va disminuyendo con la edad del sujeto, esto indica que el periodo del marcapaso cada

vez va siendo más preciso. La presencia de un ajuste de fase cada vez más preciso nos indica el desarrollo gradual de la aparición del proceso de sincronización, reportes previos indican que el sistema circádico en desarrollo no es afectado grandemente por cambios en el ambiente y gradualmente se sincronizan a estímulos ambientales periódicos (Rietveld, 1990), es decir el proceso de sincronización emerge cuando los foto-receptores y el oscilador se han acoplado adecuadamente (Davis, 1990) lo cual sucede en E17 cuando el tracto retinohipotalámico ( TRH) se empieza a desarrollar ( Stanfield y Cowan, 1976; Felong y Moore, 1976), sin embargo también durante la vida fetal el NSQ oscila en fase con el ciclo L:O ambiental, ya sea porque la madre presenta incidencia de la luz dentro del útero en ratas preñadas (Jacques y Cols, 1987) o bien porque involucra una comunicación materna a través de señales circádicas al feto, probablemente a través de hormonas.

En los sujetos malnutridos el patrón conductual presenta componentes en oscilación espontánea los cuales no se fusionan en un solo bloque de actividad a lo largo de todo el registro, lo cual sugiere que el desarrollo del ritmo se ve afectado ya sea por alteraciones morfológicas o funcionales en el marcapaso ( el NSQ en los mamíferos); Posteriormente a los 120 días de edad, los sujetos desnutridos presentaron el fenómeno de partición, el cual se caracteriza por la presencia de dos componentes conductuales, lo cual sugiere dos cosas: primero, la presencia de un sistema multioscilar desecoplado, ya que el fenómeno de splitting es una de las evidencias para ello junto con la desincronización interna en humanos. La partición es la disociación de un componente de actividad en dos componentes con una relación de fase de  $180^\circ$ , este fenómeno parece ser característico de la estructura interna del sistema circádico central en el NSQ, ya que en sujetos con splitting la actividad eléctrica de las células de este núcleo también presentan un patrón de disparo bimodal in vitro; este fenómeno no se ha reportado en la rata, bajo luz continua con intensidades superiores a los 200 lux, lo cual nos lleva a una segunda

posibilidad que se refiere a que aunque la sincronización al ciclo L.O no es la adecuada, el sistema puede captar más intensidad de luz que la que realmente se impone, sabemos que el sistema circádico es sensible sólo a cierto rango de iluminación (Takahashi, 1984) por lo que es probable que los malnutridos capten intensidades de luz superiores.

Con respecto al desarrollo de la arquitectura del ritmo circádico de ingesta de agua, los sujetos control presentaron una disminución gradual de la fracción de actividad, lo cual está de acuerdo con lo reportado en la literatura, con respecto a que la luz disminuía la actividad de los sujetos y la oscuridad la aumentaba, esto en animales nocturnos; en cambio los sujetos malnutridos aunque presentaban una tendencia a reducir el valor de la fracción de actividad, a los 120 días ésta aumentaba y presentaba partición reduciéndose profundamente la fracción de reposo, esto está de acuerdo con la literatura que describe que la desnutrición induce una hiperactividad conductual (Levitsky y Barnes, 1972).

El periodo en sincronización presenta valores similares, cercanos a las 24 hrs., a los 30 y 90 días en ambos grupos experimentales, sin embargo a los 120 días los sujetos del grupo control presentaron un claro ritmo en sincronización y los sujetos experimentales presentaron dos periodos de aproximadamente  $11.34 \pm 1.08$  hrs., además la labilidad de tau\* de los sujetos desnutridos va aumentando conforme avanza la edad, lo cual sugiere un retraso en la maduración del proceso de sincronización.

Con respecto al ajuste de fase los sujetos control presentaron una disminución gradual de los adelantos de fase en relación con el índice de fase, así como su labilidad va disminuyendo conforme avanza la edad, lo cual también sugiere un desarrollo adecuado del proceso de sincronización, en cambio los sujetos desnutridos presentan adelantos de fase constantes, aún en edades avanzadas, así como su labilidad va aumentando con la edad lo cual también sugiere un retraso en

el desarrollo de la sincronización

El sistema circádico está compuesto por vías aferentes, por uno o varios osciladores y por las vías que transmiten la señal temporal a los efectores (eferentes) (Takahashi y Zats, 1982), entonces, el desarrollo de cada uno de estos componentes llevaría a la emergencia de las características circádicas de las diferentes conductas.

El desarrollo funcional del NSQ parece ocurrir en dos etapas; en la primera se desarrolla la ritmicidad intrínseca, la cual se inicia en el día embrionario 19 (E19), y en la segunda etapa se lleva a cabo el desarrollo de un marcapaso circádico, éste ocurre cuando se desarrollan las aferentes, las conexiones intrínsecas y las eferentes lo cual ocasiona que funcione a manera de una red neuronal.

De E19 a P10 (día postnatal 10) los osciladores neuronales cambian de una situación de acoplamiento no sináptico y sincronización por señales maternas a un funcionamiento de red neuronal, con una inervación aferente, conexiones intrínsecas y proyecciones eferentes que acoplan al NSQ a los sistemas efectores que exhiben la ritmicidad, por lo que la aparición de un ritmo circádico refleja la maduración del sistema efector. Es decir muchas de las funciones en sujetos recién nacidos son faltantes de ritmicidad circádica hasta llegar a cierta edad posnatal, sin embargo diferentes ritmos circádicos aparecen en diferentes etapas de desarrollo, acorde muy probablemente, a la maduración de los sistemas de acoplamiento entre los efectores y los osciladores, probablemente localizados en el NSQ (Moore, 1979) aún cuando exista evidencia de que el oscilador funciona en etapas tempranas del desarrollo (Davis, 1981), de esta manera los datos obtenidos del experimento 1 son consistentes con esta hipótesis ya que se observa en los actogramas la gradual aparición de la fracción de actividad y de reposo bien definida, de hecho en los análisis de densidad espectral y periodograma de los sujetos control nos mostraron claramente el desarrollo del patrón circádico del ritmo de ingesta de agua, a los 30

días de edad ambos análisis mostraban un componente circádico junto con algunos componentes en el rango ultradiano e infradiano, los cuales fueron desapareciendo gradualmente conforme avanzaba la edad, hasta que finalmente sólo se observaba el componente circádico.

El proceso de organización circádica puede ser explicado de dos maneras diferentes (Davis, 1981), la primera es la llamada "modulación de amplitud", esta asume que el incremento en la amplitud de componentes ultradianos durante la fase activa y/o un decremento en la amplitud de estos componentes durante la fase de reposo son los responsables de la emergencia de un ritmo circádico, aunque el periodo de estos componentes no es cambiado. La segunda explicación es la llamada "modulación de frecuencia", la cual asume cambios en el periodo de los componentes ultradianos o bien en grupos de componentes ultradianos que ocurren predominantemente en la fase activa, es decir los periodos de los componentes ultradianos durante la fase activa se hacen progresivamente más cortos que durante la fase de reposo. De este modo un ciclo de luz/obscuridad no sería necesario para la manifestación de ritmos circádicos (Honma y Honma, 1985), conforme a estas hipótesis nuestros datos más bien apoyan la hipótesis de la modulación de amplitud, ya que tanto en el análisis de densidad espectral y en el periodograma  $X^2$  mostraban la disminución de amplitud de los componentes ultradianos e infradianos y el componente circádico aumenta gradualmente en amplitud, sin cambiar su valor de periodo, como se observa en la gráfica de desarrollo del periodo.

Debido a que las neuronas del NSQ se originan en E14-E17 (Ifft, 1976) la malnutrición podría ocasionar una disminución en el número de ellas, sin embargo el proceso de desnutrición podría afectar la migración de las células nerviosas a sus sitios blanco, recientemente se reportó que las neuronas del NSQ sufrían una reducción en su tamaño en sujetos desnutridos (Cintra y Cols. 95). De un modo similar, también estos sujetos podrían presentar un retraso en la expresión del

fenotipo neuronal, el cual ocurre de manera primordial en etapas fetales tardías iniciando en E18-19 (Robinson y Fuchs, 1993) y terminando en etapas postnatales, el proceso de gliogénesis (E18) así como el de muerte neuronal (E20-P6) también pueden verse afectados, sin embargo lo que probablemente se vea más afectado es la formación del neuropilo y la sinaptogénesis los cuales son eventos totalmente postnatales (E20-P10). La interferencia en estos procesos podría ocasionar una inadecuada comunicación entre los distintos tipos celulares que conforman el marcapaso lo cual, de una manera individual o en conjunto podrían ocasionar la tardía emergencia o la ausencia de un patrón circádico normal en los sujetos desnutridos, ésto a su vez ocasionaría un retraso en la presencia de los ritmos funcionales, ya sean los expresados tempranamente como los expresados tardíamente, los cuales necesitan la formación de una red neuronal.

Además la desnutrición podría afectar la secreción de algunas hormonas como la melatonina la cual está involucrada en procesos como el acoplamiento entre los distintos osciladores; sin embargo en etapas adultas se ha reportado que la desnutrición no afecta la síntesis de melatonina (Herbert y Reiter, 1981). A los 120 días de edad la presencia de la partición en los sujetos experimentales parecería un efecto similar a la pinealectomía (Aguilar-Roblero y Cols. 1993) en la cual, la falta de esta glándula facilita la presencia del splitting en L:L en hámster, por lo que es posible que en edades adultas la secreción de la melatonina sea parcialmente inhibida por la luz debido a que estos sujetos captan una mayor intensidad de luz, ésto a su vez ocasionaría un desacoplamiento entre los osciladores por falta de melatonina.

Es probable que el marcapaso esté conformado por varios osciladores (2 ó más) los cuales en condiciones de nutrición normal éstos se encuentran acoplados, ya sea por vía neural o humoral y en condiciones de desnutrición o malnutrición crónica se impida este acoplamiento entre los osciladores lo cual ocasionaría el

patrón conductual general observado en estos sujetos. Esta falta de acoplamiento puede ser debida tanto a un retraso en el desarrollo de las conexiones neurales, a una falta de ellas o bien que éstas sean aberrantes, las cuales se han reportado en otras áreas cerebrales ocasionadas por la malnutrición.

La imprecisión en el ajuste de fase a un ciclo L.O observado antes de la partición nos sugiere una mala sincronización. ésto debido probablemente a un retraso en el desarrollo de las vías de sincronización, éstas son dos principalmente, el TRH y el TGH; el TRH es suficiente para mediar la sincronización, este tracto se origina en E16-E17 (Bunt y Cols., 1983) y no es enteramente evidente hasta P4 (Felong y Moore, 1976) aunque es funcional en P1 (Fuchs y Moore, 1984), en lo que se refiere al TGH éste se desarrolla completamente en etapas postnatales a partir de P1 (So y Cols., 1978); la malnutrición podría afectar la formación, el desarrollo, la maduración y la mielinización de estos tractos ocasionando que los sujetos malnutridos no puedan sincronizarse correctamente



Los organismos muestran persistencia de los ritmos circadianos aún cuando son aislados de señales cíclicas ambientales, el ciclo de actividad-reposo progresivamente se desvía con respecto al tiempo del reloj a esta situación se le denomina oscilación espontánea, ésta presenta un periodo más corto o más largo que las 24 hrs., este periodo presenta una precisión impresionante sin embargo la estabilidad es variable en el tiempo. Esta característica le permite al reloj predecir la ocurrencia de eventos en su ambiente, además la precisión de tau disminuye conforme ésta se va alejando de las 24 hrs., sin embargo otros factores fisiológicos pueden afectar a tau como el ejercicio físico, los niveles circundantes de hormonas, procesos ontogenéticos, etc

Al colocar a los sujetos malnutridos en oscuridad continua los dos bloques de actividad observados tanto en el registro conductual como en el análisis de densidad espectral y periodograma  $\chi^2$ , se unen en uno solo y este bloque presenta posteriormente un corrimiento espontáneo con un periodo circádico, por lo que es probable que la secreción de melatonina esté afectada por la desnutrición.

El ritmo en oscilación espontánea de los sujetos control bajo condiciones de oscuridad continua presentan un periodo de  $24.25 \pm 0.14$  y el periodo endógeno de los desnutridos fue de  $24.34 \pm 0.16$  lo cual sugiere que el periodo de los sujetos experimentales tiende a alejarse de las 24 horas, por lo tanto su precisión va disminuyendo conforme avanza la edad.

Los ritmos circádicos son usualmente sincronizados a factores ambientales como el ciclo L:O sin embargo un cambio en la ocurrencia del ciclo L:O por un cierto número de horas, los ritmos circádicos se resincronizan al nuevo ciclo L:O después de un periodo de transitorios, en donde el largo de los periodos de transitorios depende de la magnitud del cambio del ciclo L:O y/o del ritmo circádico particular el cual se ha medido, este periodo de tiempo puede ser 1 ó 2 semanas para la mayor parte de los ritmos para ser sincronizados completamente al nuevo ciclo de L:O.

El ritmo circádico de ingesta de agua en oscilación espontánea de los sujetos control al ser expuesto a un nuevo ciclo L:O 12:12 presentó un periodo de ciclos transitorios de  $6.9 \pm 2.6$  días para poder sincronizarse al ciclo de iluminación, lo cual está de acuerdo con lo reportado en la literatura. En cambio, los sujetos desnutridos presentaron una sincronización casi inmediata con pocos ciclos transitorios ( $2.6 \pm 0.5$  días) lo cual sugiere un efecto de enmascaramiento por la luz.

El enmascaramiento es usado para describir los efectos directos e inmediatos ejercidos por periodicidades ambientales sobre un ritmo, la diferencia más importante

entre el enmascaramiento y la sincronización es la relativa al periodo de tiempo de resincronización del ritmo expresado en comparación al ambiental; cuando se sufre enmascaramiento el curso temporal es muy similar a la sincronización pero los transitorios entre los dos estados conductuales es abrupto como el cambio ambiental, en cambio cuando el ambiente actúa como sincronizador (Zeitgebers) y sincroniza un oscilador interno la transición conductual es menos abrupta y la coincidencia entre el factor ambiental y el ritmo es inexacta. Por lo que por si mismos el enmascaramiento y la sincronización pueden originarse externamente y ambos alteran la expresión de un ritmo.

Un ritmo circádico puede ser enmascarado por algunas señales ambientales a las cuales el organismo es sensible independientemente si esta señal sincroniza o no el ritmo en cuestión; las señales enmascaradoras afectan directamente a los efectores, es decir no son transmitidas via el marcapaso aunque éste puede ser extendido al marcapaso directamente; el efecto de enmascaramiento puede tener la duración completa de una señal (respuesta tónica) o bien puede tener una respuesta transitoria a una etapa de la condición ambiental ( respuesta fasica); una señal enmascaradora no puede ser anticipada por el ritmo circádico, por lo que es necesario distinguir entre los dos procesos; este efecto de enmascaramiento observado en los sujetos desnutridos puede deberse a que estos pueden captar una mayor intensidad de luz, ya que hay dos vías por las cuales los animales compartamentalizan su actividad dentro del día y la noche, la presencia de un reloj endógeno, el cual es sincronizado cada día por un ciclo L:O o bien pueden responder a la luz decrementando su actividad, ésto para un roedor nocturno. En el primer caso la actividad es sincronizada por la luz, en el segundo caso la actividad es enmascarada por la luz. La demostración de la sincronización por la presentación periódica de un estímulo muestra que la actividad ocurre en fase con el estímulo no es simplemente una respuesta directa a el estímulo pero representa un control de

fase para el reloj endógeno, es decir el animal responde rápidamente a cualquier cambio ambiental, sin que necesariamente la información sea procesada y transmitida vía el marcapaso, por lo que estos sujetos responden al ciclo L:O con pocos días de transitorios.

Bajo condiciones de L:O los ritmos conductuales pueden reflejar los efectos dependientes del reloj a la luz, así como los efectos de la transmisión o enmascaramiento. Una complicación es que los efectos de la transmisión pueden ser modulados por la ritmicidad circádica, un método para separar los componentes endógenos y exógenos de un ritmo sincronizado por la luz es proveído por el fotoperiodo esqueleto en el cual dos breves pulsos de luz son presentados cada día en el tiempo en el cual la transición de la luz ocurre bajo un ciclo de L:O normal; si los dos pulsos son presentados 12 horas a parte, el estímulo produce un fotoperiodo esqueleto de 12 horas el cual mimeliza los efectos sincronizadores del ciclo L:O 12:12 pero también pueden ser sincronizados a pulsos de 1 segundo, lo cual demuestra que la sincronización no requiere de prolongada exposición diaria a la luz.

Los sujetos control respondieron al fotoperiodo esqueleto con un número de transitorios similares ( $6.1 \pm 3.1$ ) al del fotoperiodo completo, lo cual sugiere que estos sujetos se sincronizan adecuadamente tanto a estímulos tónicos como fásicos, en cambio los sujetos desnutridos presentaron un mayor número de ciclos transitorios ( $12.3 \pm 6.8$ ) por lo que es posible que éstos respondan más fácilmente a estímulos prolongados, enmascarándose la conducta y cuando se exponen a estímulos de corta duración el marcapaso tarde mucho tiempo en responder pero la conducta no se enmascara.



Los resultados de éste trabajo indican que la malnutrición proteínica instalada pre y postnatalmente induce:

- 1) Disminución de la efectividad del ciclo luz-obscuridad para sincronizar el ritmo circádico de ingesta de agua.
- 2) La partición del bloque de actividad en dos fracciones de actividad bajo un ciclo luz-obscuridad 12:12.
- 3) El enmascaramiento de la actividad por la luz.

Estas observaciones podrían ser explicadas por alteraciones en la maduración morfofuncional del sistema circádico de los sujetos, inducidos por la malnutrición; dichas alteraciones podrían involucrar:

- a) Transtornos en los mecanismos de sincronización del sistema circádico.
- b) Transtornos en los mecanismos de acoplamiento interno entre los distintos osciladores del sistema.
- c) Transtornos en el período endógeno de los distintos osciladores del sistema.

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

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

**AGUILAR-ROBLERO, R., SHIBATA, S., SPEH, J.C., DRUCKER-COLIN, R. Y MOORE, R.Y.** Morphological and functional development of the suprachiasmatic nucleus in transplanted fetal hypothalamus. *Brain Research* 580:288-296 1992a.

**AGUILAR-ROBLERO, R., DRUCKER-COLIN, R. Y MOORE, R.Y.** Behavioral and morphological studies of fetal neural transplants into SCN-lesioned rats. *Chronobiology International* 9:278-296, 1992b.

**AGUILAR-ROBLERO, R.** Teorías básicas de los ritmos biológicos. *Psiquis* 2:121-133 1993.

**AGUILAR-ROBLERO, R. y VERDUZCO-CARBAJAL, L.** Circadian rhythmicity in the GABAergic system in the suprachiasmatic nuclei of the rat. *Neuroscience Letters* 157:199-202 1993.

**ALMEIDA, S.S.; De OLIVEIRA, L.M. y GRAEFF, F.G.** Early life protein malnutrition changes exploration of the elevated plus-maze and reactivity to anxiolytics. *Psychopharmacology* 103:513-516 1991

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

- ARECHIGA, H.** Circadian rhythms. *Current Opinion in Neurobiology* 3:1005-1010 1993.
- ASCHOFF, J. Y WEVER, R.** Human circadian rhythms: A multioscillatory system. *Fed. Proc.* 35:2326-2332, 1976
- ASCHOFF, J.** A survey on biological rhythms. En *Biological Behavior*. (eds) Aschoff, J. pag. 3-10, 1986.
- BARNES, D. y ALTMAN, J.** Effect of two levels of gestational- lactational undernutrition on the postweaning growth of the rat cerebellum. *Exp. Neurol.* 38:420-428 1983.
- BEDI, K.S.** Lastin neuroanatomical changes following undernutrition during early life. In *Early nutrition and later achievement*. (ed.) Academic Press. 1-50, 1987.
- BEDI, K.S. Y WARREN, M.A.** Effects of nutrition on cortical development. En Peters, a. y Jones, e.g. Eds. *Cerebral Cortex Vol 7 Development and Maturation of Cerebral Cortex*, New York. Plenum Press. p-441-478 1988.
- BEDI, K.S.** Effects of undernutrition during early life on granule cell numbers in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurology* 311:425-433 1991.
- BEDI, K.S.** Undernutrition of rats during early life does not affect the total number of cortical neurons. *J. Comp. Neurology* 342:596-602 1994.
- BINKLEY, S.** Structures and molecules involved in generation and regulation of biological rhythms in vertebrates and invertebrates. *Experimentia* 49:648-653 1993.
- BJORKLUND, A. y STENEVI, U.** Intracerebral neural grafting: A historical perspective. *Neural grafting in the mammalian CNS*. Eds. Bjorklund, A. and Stenevi, U. Elsevier Science Publisher. p3-14 1985.
- BLOCK, G.D. y PAGE, T.L.** Circadian pacemakers in the nervous system. *Ann. Rev. Neurosci.* 1:19-34 1978.

**BOER, G.J. ; GRIFFIOEN, H.A. y SAEED, P.** Grafted fetal suprachiasmatic nucleus cells survive much better in tissue pieces than in suspension. *Restorative Neurology & Neuroscience* 4:261-269 1992.

**BROCK . J.W. y PRASAD, C.H.** Alterations in dendritic spine density in the rat brain associated with protein malnutrition *Dev. Brain Res.* 66:266-269 1992.

**BUNNING,E.** *The Physiological Clock* English University Press, London. p-258, 1973.

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

**CASSONE, V.M.** Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. *TINS in Neuroscience* 13:457-463 1990.

**CINTRA,L., DIAZ-CINTRA,S., GALVAN, A. Y MORGANE, P.J.** Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. de Estud. Méd. y Biol. Mex.* 36: 3-17, 1988.

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

**CINTRA, L. y GALVAN, A.** Influencia de los nutrientes en el desarrollo del sistema nervioso. En *Ontogenia Neural*. Edt. Soc Mex. Ciencias Fisiologicas. 147-163 1992.

**CINTRA, L.; GALVÁN, A.; DÍAZ-CINTRA, S. Y ESCOBAR, C.** Protein malnutrition on suprachiasmatic nucleus cells in rats of three ages. *Bol. Estud. Méd. y Biol. Mex.* 42:11-19 1994.

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

- CORDERO, M.E., DIAZ, G. Y ARAYA, J.** Neocortex development during severe malnutrition in the rat. *Am. J. Clin. Nutrition.* 29:358-365 1976.
- CZEISLER, CH.; RICHARDSON, G.S.; ZIMMERMAN, J.C.; MOORE-EDE, M.C. y WEITZMAN, E.D.** Entrainment of human circadian rhythms by light-dark cycles: A reassessment. *Photochemistry and Photobiology* 34:239-247 1981.
- DAVIS, F.C. Y MENAKER, M.** Development of the mouse circadian pacemaker: Independence from environmental cycles. *J. Comp. Physiol.* 143:527-539 1981.
- DAVIS, F.C.** Ontogeny of circadian rhythms. In *Handbook of Behavioral Neurobiology.* vol. 4, Edit. Aschoff, J. Plenum press. New York and London. pp.257-270, 1986.
- DAVIS, F.C. y GORSKI, R.A.** Development of hamster circadian rhythms: prenatal entrainment of the pacemaker. *J. Comp. Physiol.* 154:221-231, 1984.
- DAVIS, F.C.** Development of the SCN. Suprachiasmatic nucleus. *The mind's Clock.* Eds. Klein, D.C.; Moore, R.Y. y Reppert, S.M. Oxford University Press. p-375-390 1993.
- DE COURSEY, P.J.** Circadian photoentrainment: Parameters of phase delaying. *J. Biological Rhythms* 1:171-186 1986.
- DE COURSEY, P.J. Y BUGGY, J.** Circadian rhythmicity after neural transplant to hamster third ventricle: Specificity of suprachiasmatic nuclei. *Brain Research* 500:263-275, 1989.
- DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L., KEMPER, T., RESNICK, O. 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, 1981.
- DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L., KEMPER, L., RESNICK, O. Y MORGANE, P.J.** The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Research* 304: 243-253, 1984.

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

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

**DIAZ-CINTRA,S., GARCIA-RUIZ, M.; CORDOKI, G. y CINTRA, L.** Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. *Brain Research* 662:117-126 1994.

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

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

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

**DOBBING,J. Y SMART,J.L.** Early undernutrition, brain development and behavior. In: *Ethology and Development,* (Eds.) S.A. Barnett, pp. 16-36. Lippincott, Philadelphia 1973.

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

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

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

- DRUCKER-COLIN,R., AGUILAR-ROBLERO,R., GARCIA-HERNANDEZ,F., FERNANDEZ-CANCINO,F. Y BERMUDEZ, F.R.** Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: Diurnal rhythm recovery of lesioned rats. *Brain Research* 311:353-357,1984.
- EARNEST, D.J.; SLADEK, J.R.; GASH, D.M. Y WIEGAND, S.J.** Specificity of circadian function in transplants of the fetal suprachiasmatic nucleus. *J. Neuroscience* 9:2671-2677 1989.
- EASTMAN, CH.** Are separate temperature and activity oscillators necessary to explain the phenomena of human circadian rhythms. *Mathematical Models of Circadian Sleep*. 123:81-103 1984.
- EAYRS, J.T. y HORN, G.** Development of cerebral cortex in hypothyroid and starved rats. *Anat Rec*. 121:53 1955.
- ENWONWU, C.O. y WORTHINGTON, B.S.** Concentrations of histamine in brain of guinea pig and rat during dietary protein malnutrition. *Biochem. J.* 144:601-603 1974.
- ESKIN, A.** Identification and physiology of circadian pacemakers. *Federation Proceedings* 38:2570-2572, 1979.
- FORBES,W., TRACY,C., RESNICK,O. Y MORGANE, P.J.** Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Experimental Neurology* 57: 440-450, 1977.
- FREEDMAN,L.S., SAMUELS,S., FISH,I., SCHWARTZ, S.A., LANGE,B., KATZ,M. Y MORGANO,L.** Sparing of the brain in neonatal undernutrition: Amino acid transport and incorporation into brain and muscle. *Science* 207:902-904, 1980.
- FUCHS,J.L. Y MOORE R.Y.** Development of circadian rhythmicity and light responsiveness in the rat suprachiasmatic nucleus: A study using the 2-Deoxy(1-14 C)glucose method. *Proc. Natl. Acad.Sci. USA.* 77:1204-1208,1980.
- GALVAN, R.R.** Nutricion, alimentacion y crecimiento. *Ciencia Especial*: 69-81, 1990.

- GALLER, J.R. Y TONKISS, J.** Prenatal protein malnutrition and maternal behavior in Sprague-Dawley rats. *J. Nutr.* 121:762-769 1991.
- GALLER, J.R.; TONKISS, J. Y MALDONADO-IRIZARRY, C.S.** Prenatal protein malnutrition and home orientation in the rat. *Physiology & Behavior* 55:993-996 1994.
- GARCIA-RUIZ, M., DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L. y CORDOKI, G.** Effect of protein malnutrition on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of three ages. *Brain Research* 625:203-212 1993.
- GASH, D.M. y SLADEK, J.R.** Functional and non-functional transplant: studies with grafted hypothalamic and preoptic neurons. *TINS* 6:391-394 1984.
- GRAMSBERGEN, A.** EEG development in normal and undernourished rats. *Brain Research* 105: 287-308, 1976.
- GRAMSBERGEN, A. Y WESTERGA, J.** Locomotor development in undernourished rats. *Behav-Brain-Res.* 48:57-64 1992.
- GREEN, D.J. Y GILLETTE,R.** Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. *Brain Research* 245: 198-200, 1982.
- GRIFFITHS, R.A.** Natural environmental cues and circadian rhythms of behavior. A perspective. *Chronobiology Int.* 3:247-253 1986.
- GROOS, G. Y MASON, R.** Maintained discharge of rat suprachiasmatic neurons at different adaptation levels. *Neuroscience Letters* 8:59-64,1978.
- GROOS, G. Y HENDRIKS, J.** Circadian rhythms in electric discharge of rat suprachiasmatic neurons recorded in vitro. *Neuroscience Letters* 34: 283-288, 1982.
- GROOS, G., MASON, R. Y MEIJER, J.** Electrical and Pharmacological properties of the suprachiasmatic nuclei. *Federation Proc.* 42:2790-2795, 1983.
- GUILLETTE, M.U.** SCN Electrophysiology in vitro: Rhythmic activity and endogenous clock properties. In *Suprachiasmatic Nucleus. the minds clocks.* Edts. Klein, D.C., Moore, R.Y. and Reppert, S.M. Oxford University Press. 1991.

- HALBERG, F.** Chronobiology. *Ann. Rev. of Physiol.* 31: 675-725, 1969
- HARRINGTON, M.E., DWIGHT, M.N. Y RUSAK, B.** Double-labeling of neuropeptide Y immunoreactive neurons which project from the geniculate to the suprachiasmatic nuclei. *Brain Research* 410: 275-282, 1987
- HATAI, S.** The effect of partial starvation on the brain of the white rat. *Am. J. Physiol* 12:116 1904
- HERBERT, D.C. Y REITER, R.J.** Influence of protein-calorie malnutrition on the circadian rhythm of pineal melatonin in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 166:360-366 1981
- HERNANDEZ, R.J.** Effect of malnutrition and 6-hydroxydopamine on the early postnatal development of noradrenaline and serotonin content in the rat brain. *Biol. Neonate* 30:181-186, 1976.
- INOUE, S.T. Y KAWAMURA, H.** Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic island containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76: 5962-5966, 1979
- INOUE, S.T. Y KAWAMURA, H.** Characteristics of a circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *J. Comp. Physiol* 146:153-160, 1982.
- JACKLET, J.W.** Neurobiology of circadian rhythms generators. *TINS* 8:69-73 1985
- JACKSON, C.M. Y STEWART, C.A.** The effects of inanition in the young upon the ultimate size of the body and of the various organs in the albino rats. *J. Exp. Zool.* 30:97-128 1920.
- JOLKKONEN, J.** Vasopressin levels in the cerebrospinal fluid of rats with lesions of the paraventricular and suprachiasmatic nuclei. *Neuroscience Letters* 86:184-188 1988.
- KEMPER, T.L., PASQUIER, D.A. Y DRAZEN, S.** Effect of a low protein diet on the anatomical development of subcortical formations. *Brain Research Bulletin* 3: 443-450, 1978.

**KITTRELL, E.M.W.** The suprachiasmatic nucleus and temperature rhythms. In the Suprachiasmatic Nucleus. The minds clocks. Edts. Klein, D., Moore, R.Y. and Reppert, S.M. Oxford University Press. 1991

**KRIEGER, D.T.** Food and water restriction shifts corticosterone, temperature, activity, and brain amine periodicity. *Endocrinology* 95:1195-1201 1974

**LeSAUTER, J. Y SILVER, R.** Suprachiasmatic nucleus lesions abolish and fetal grafts restore circadian gnawing rhythms in hamsters. *Restorative Neurology and Neuroscience* 6:135-143 1994.

**LEE, C.J. Y DUBOS, R.** Lasting biological effects on early environmental influences VII. effects of neonatal infection, perinatal malnutrition, and crowding on catecholamines metabolism of brain. *J. Exp. Med.* 136:1031-1042 1972.

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

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

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

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

**MENAKER, M.** Biological Clocks. *BioScience* 19:681-689 1969.

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

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

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

**MILLER, J.D.** On the nature of the circadian clock in mammals. *Am. J. Physiol.* 264:R821-R832 1993.

**MISTLBERGER, R.E. Y RUSAK, B.** Food-anticipatory circadian rhythms in rats with paraventricular and lateral hypothalamic ablations. *J. Biological Rhythms* 3:277-291 1988.

**MISTLBERGER, R.E.** Circadian food-anticipatory activity: Formal models and physiology mechanism. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 18:171-195 1994.

**MOORE-EDE, M.C.; SCHMELZER, W.S.; KASS, D.A. Y HERD, J.A.** Internal organization of the circadian timing system in multicellular animals. *Federation Proc.* 35:2333-2338 1976.

**MOORE-EDE, M.C.** The circadian timing system in mammals: Two pacemakers preside over many secondary oscillators. *Federation Proc.* 42:2802-2808 1983.

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

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

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

**MORGANE, P.J.; MILLER, M.; KEMPER, T.; STERN, W.; FORBES, W.; HALL, R.; BRONZINO, J.; KISSANE, J.; HAWRYLEWICZ, E. Y RESNICK, O.** Maternal protein malnutrition and the developing nervous system. *Neurosci Biobehav. Rev.* 2 137-230, 1978.

- MORGANE,P.J., AUSTIN-LA FRANCE,R.,BRONZINO,J., TONKISS,J., DIAZ-CINTRA,S., CINTRA,L., KEMPER,T. Y GALLER,R.J.** Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Behavioral reviews*. in press 1992.
- NEWMAN, G.C. Y HOSPOD, F.E.** Rhythm of suprachiasmatic nucleus 2-Deoxyglucose uptake in vitro. *Brain Research* 381: 345-350, 1986.
- NOWAK, T.S. Y MUNRO, H.N.** Effects of protein calorie malnutrition on biochemical aspects of brain development. In *nutrition and the brain*. (eds.) Wurtman, r.j. Raven press, NY. 194-260, 1977.
- OTTO FRIESEN, W., BLOCK, G.D. Y HOCKER, C.G.** Formal approaches to understanding biological oscillators. *Ann. Rev. Physiol.* 55:661-681 1993.
- PATEL, A., BALAZS, R. Y JOHNSON, A.L.** Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. *J. Neurochem.* 20:1151-1165 1973.
- PATEL, A.** Undernutrition and brain development. *Trends in Neuroscience* 6:151-154 1983.
- PAXINOS,G. Y WATSON,C.** The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press NY. 1982.
- PEELING, A.N. Y SMART, J.L.** Vulnerability of developing brain to undernutrition: Claims of selective sensitivity of the cerebellum found to be misleading on theoretical and empirical grounds. *Growth Dev. Aging* 55:105-116 1991.
- PERLOW, M.J.** Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science* 204:643-647 1979.
- PICKARD,G.E. Y TUREK,F.W.** Splitting of the circadian rhythm of activity is abolished by unilateral lesion of the suprachiasmatic nuclei. *Science* 215: 1119-1121, 1982.
- PICKARD, G.E. Y TUREK, F.W.** The suprachiasmatic nuclei: two circadian clock? *Brain Research* 268: 201-210, 1983.
- PICKARD, G.E., TUREK, F.W. Y SOLLARS, P.J.** Light intensity and splitting in the golden hamster. *Physiology and Behavior* 54:1-5 1993.

- PITTENDRIGH, C.S. y MINIS, D.H.** The entrainment of circadian oscillations by light and their role as photoperiodic clocks. *Am Naturalist*. 98:261-291 1964.
- PITTENDRIGH, C.S.** Circadian rhythms and the circadian organization of living system. 159-184 1966.
- PITTENDRIGH, C.S. Y MINIS, D.H.** Circadian systems: longevity as a function of circadian resonance in *drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci* 69:1537-1539 1972.
- PITTENDRIGH, C.S. Y CANDAROLA, P.C.** General homeostasis of the frequency of circadian oscillations. *Proc Natl. Acad Sci*. 70:2697-2701 1973.
- PITTENDRIGH, C.S. Y DAAN, S.** Circadian oscillations in rodents: A systematic increase of their frequency with age. *Science* 186:548-550 1974.
- PITTENDRIGH, C.S. Y DAAN, S.** A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. (I-IV). *J. Comp. Physiol*. 106: 223-355, 1976.
- PITTENDRIGH, C.S.** Some functional aspects of circadian pacemakers. *Biological rhythms and their central mechanism*. 3-12 1979.
- PITTENDRIGH, C.S.** Circadian Systems: General Perspective. In *Handbook of Behavioral Neurobiology*. vol.4 Edit. Aschoff, J. Plenum Press. Now york and London. pp. 57-77, 1984.
- PITTENDRIGH, C.S. Y TAKAMURA, T.** Temperature dependence and evolutionary adjustment of critical night length in insect photoperiodism. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 84:7169-7173 1987.
- PITTENDRIGH, C.S.; KYNER, W.T. Y TAKAMURA, T.** The amplitude of circadian oscillations: The temperature dependence, latitudinal clines, and the photoperiodic time measurement. *J. Biological Rhythms* 6:299-313 1991.
- RAJALAKSHMI, R.; PARAMESWARAN, M.; TELANG, S.D. Y RAMAKRISHNAN, C.V.** Effect of undernutrition and protein deficiency on glutamate dehydrogenase and decarboxylase in rat brain. *J. Neurochem*. 23:129-133 1974.

- RALPH,M.R. Y MENAKER, M.** A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science* 241:1225-1227 1988
- RALPH,M.R., FOSTER, R.G., DAVIS, F.C. Y MENAKER, M.** Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247:975-978 1990.
- RALPH,M.R. Y LEHMAN,M.N.** Transplantation: A new tool in the analysis of the mammalian hypothalamic circadian pacemaker. *Trends in Neuroscience* 14 (8): 362-366, 1991.
- RALPH,M.R., JOYNER, A.L. Y LEHMAN,M.N.** Culture and transplantation of the mammalian circadian pacemaker. *J. Biological Rhythms* 8:S83-S87 1993.
- REPPERT, S.M., CHEZ, R.A., ANDERSON, A. Y KLEIN, D.C.** Maternal fetal transfer of melatonin in the non-human primate. *Pediatr. Res.* 13:788-791 1979.
- REPPERT, S.M.; ARTMAN, H.G.; SWAMINATHAN, S. Y FISHER, D.A.** Vasopressin exhibits a rhythmic daily pattern in cerebrospinal fluid but not in blood. *Science* 213:1256-1257, 1981.
- REPPERT, S.M., SCHWARTZ, W.J. Y UHL, G.R.** Arginine vasopressin: A novel peptide rhythm in cerebrospinal fluid. *TINS in Neuroscience* 6: 1990.
- RESNICK, O. Y MORGANE, P.J.** Ontogeny of the levels of serotonin in various parts of the brain in severely protein malnourished rats. *Brain Research* 303: 163-170, 1984.
- RESNICK,O.** Nutrition, neurotransmitter regulation, and developmental pharmacology. In *Preventive and curative intervention in mental retardation.* (eds) Menolacino, F.J.J and Stark,J.A. p 161-175, 1988.
- RICHARDSON,G.S.** Circadian rhythms and aging. *Handbook of the biology of aging.* Cap. 13: 275-305, 1990
- RICHTER, C.P.** A behavioristic study on the activity of the rat. *Comp. Psych. Monographs* 1:1-55 1922.

- RIETVELD, W.J.** The central control and ontogeny of circadian rhythmicity. *European Journal of Morphology* 28 (2-4): 301-307, 1990.
- ROBAIN, O. Y PONSOT, G.** Effects of undernutrition on glial maturation. *Brain Research* 149:379-397, 1978.
- ROSENWASSER, A.M. Y ADLER, N.T.** Structure and function in circadian timing system: Evidence for multiple coupled circadian oscillators. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 10:431-448 1986.
- ROYLAND, J.** How much undernourishment is required to retard brain myelin development. *Neurochem-Int.* 21:269-274 1992.
- ROYLAND, J.** Abnormal upregulation of myelin genes underlies the critical period of myelination in undernourished developing rat brain. *Brain Res.* 607:113-116 1993.
- RUSAK, B. Y ZUCKER, I.** Biological rhythms and animal behavior. *Ann. Rev. Psychol.* 12: 137-171, 1975.
- RUSAK, B.** Neural mechanisms for entrainment and generation of mammalian circadian rhythms. *Federation Proc.* 38:2589-2595, 1979a.
- RUSAK, B.** Neural regulation of circadian rhythms. *Physiological Reviews* 59: 449-526, 1979b.
- RUSAK, B. Y ZUCKER, I.** Neural regulation of circadian rhythms. *Physiological Reviews* 59:449-526 1979.
- RUSAK, B.** The mammalian circadian system: Models and Physiology. *J. Biological Rhythms* 4:121-134 1989.
- SALAS, M.** Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. *Physiology and Behavior* 8: 119- 122, 1972.
- SALAS, M., DIAZ, S. Y NIETO, A.** Effects on neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Research* 73: 139-144, 1974.

**SALAS,M.** Privación neonatal de alimento y desarrollo cerebral: aspectos morfológicos, conductuales y electrofisiológicos. Bol. Estud. Med. Biol. Méx. 30:11-124, 1978.

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

**SALAS,M.; DÍAZ, S. Y NIETO, A.** Long term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiology & Behavior* 33:273-278 1984.

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

**SCHWARTZ, W.J. Y GAINER,H.** Suprachiasmatic nucleus: Use of <sup>14</sup>C labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* 197: 1089-1091, 1977.

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

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

**SCHWARTZ,W.J. Y CROSBY, G.** Local cerebral glucose utilization in the homozygous brattleboro rat. *Neuroscience Letters* 58:171-176 1985.

**SCHWARTZ,W. J.** A clinicians's primer on the circadian clock: Its localization, function, and resetting. *Advances in Int. Med.* 38:81-106 1993.

**SERENI, F.; PRINCIPI, N.; PERLETTI, L. Y PICENI-SERENI, L.** Undernutrition and developing rat brain. I. Influence on acetylcholinesterase and succinic acid dehydrogenase activities and on norepinephrine and 5-OH-tryptamine tissue concentrations. *Biol. Neonate* 10:254-265 1966

**SHOEMAKER, W.J. Y WURTMAN, R.J.** Effect of perinatal undernutrition on the metabolism of catecholamines in the rat brain. *J. Nutr.* 103:1537-1547 1973.

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

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

**SHRADER, R.E. Y ZEMAN, F.J.** Effect of maternal protein deprivation on morphological and enzymatic development of neonatal rat tissue. *J. Nutr.* 99:401-421 1969.

**SIASSI, F. Y SIASSI, B.** Differential effects of protein-calorie restriction and subsequent repletion on neuronal and nonneuronal components of cerebral cortex in newborn rats. *J. Nutr.* 103:1625-1633 1973.

**SIMA, A. Y PERSSON, L.** The effect of pre- and postnatal undernutrition on the development of the rat cerebellar cortex. I Morphological observations. *Neurobiology* 5:23-34 1975.

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

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

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

**STEPHAN, F.K.** Limits of entrainment to periodic feeding in rats with suprachiasmatic lesions. *J. Comp. Physiol.* 143:401-410 1981.

- STERN, W.C.; MILLER, M.; FORBES, W.B.; MORGANE, P.J. Y RESNICK, O.** Ontogeny of the levels of biogenic amines in various parts of the brain and in peripheral tissue in normal and protein malnourished rats. *Experimental Neurology* 49: 314-326, 1975.
- STEWART, C.A.** Weights of various parts of the brain in normal and underfed albino rats at different ages. 511-528, 1971.
- STEWART, C.A. Y Cols** Effect of a low protein diet in mother rats on the structure of the brains of the offspring. *Biol. Neonate* 25:125-134 1974
- SUGITA, N.** Comparative studies on the growth of the cerebral cortex. *J. Comp. Neurol* 29: 177-239, 1918.
- SWANSON, L.W. Y COWAN, W.M.** The efferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 160: 1-12, 1975.
- TAKAHASHI, J.S. Y ZATZ, M.** Regulation of circadian rhythmicity. *Science* 217: 1104-1111, 1982.
- TAKAHASHI, J.S.** Molecular approaches to understanding circadian oscillations. *Ann. Rev. Physiol.* 55:729-753 1993.
- TAKAHASHI, J.S.** Circadian-clock regulation of gene expression. *Current Opinion Genetics and Development* 3:301-309 1993.
- TUREK, F.W.** Circadian neural rhythms in mammals. *Ann. Rev. Physiol.* 47:49-64 1985.
- TUREK, F.W. Y VAN CAUTER, E.** Rhythms in reproduction. *The Physiology of Reproduction*. Edt. Knobil, E. and Neill, J.D. Raven Press. New York. p:487-540. 1994
- VAN DEN POL, A. Y POWEL, T.** A fine-grained anatomical analysis of the role of the rat suprachiasmatic nucleus in circadian rhythms of feeding and drinking. *Brain Research* 160: 307-326, 1979.

- WARREN, M.A. Y BEDI, K.S.** Synapse to neuron ratios in the visual cortex of adult rats undernourished from about birth until 100 day of age. *J. Comp Neurology* 210:59-64 1982.
- WEAVER, R.A.** Characteristics of circadian rhythms in human functions. *J. Neural transm.* 21:323-373 1986.
- WIGGINS, R.S.; BENJAMINIS, J.A.; KRIGMAN, M.R. Y MORELL, P.** Myelin synthesis during postnatal nutritional deprivation and subsequent rehabilitation. *Brain Research* 116: 257-273, 1976.
- WINFREE, A.T.** Phase control of neural pacemakers. *Science* 197:761-763 1977.
- WINICK, M.** Nutrition and nerve cell growth. *Federation Proc.* 29: 1510-1515, 1970.
- YUCEL, F. Y Cols.** The effects of undernutrition on connectivity in the cerebellar cortex of adult rats. *J. Anat.* 184 59-64 1994.
- ZLOMANCZUCK, P., MARGRAF, R.R. Y LYNCH, G.R.** In vitro electrical activity in the suprachiasmatic nucleus following splitting and masking of wheel-running behavior. *Brain Research* 559:94-99 1991.