

11281



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

7

*PROGRAMA DE DOCTORADO
EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA).*

*ENTIDAD ACADÉMICA
CENTRO DE NEUROBIOLOGÍA*

**"CORRELACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOCÁMPICA Y DEL ECoG
EN RATAS MALNUTRIDAS."**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
*DOCTORA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)***

PRESENTA:

M. EN C.F. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ

CAMPUS UNAM-UAQ JURQUILLA, QUERÉTARO

Juriquilla, Qro.

2000

7 77051



Universidad Nacional
Autónoma de México

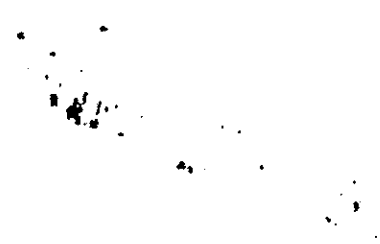


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.



RECONOCIMIENTO

EL PRESENTE PROYECTO FUE REALIZADO BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. LEÓN CINTRA MCGLONE EN EL LABORATORIO "EEG Y CRONOBIOLOGÍA" DEL CENTRO DE NEUROBIOLOGÍA DE LA UNAM, CAMPUS JURQUILLA, QUERÉTARO. FUE APOYADO POR LOS PROYECTOS DGAPA IN-208494 Y DGAPA IN-208597 PADEP 030403 Y PAEP 205314. BECA PARA ESTUDIOS DE DOCTORADO EN EL PROYECTO DE FORMACIÓN DE PERSONAL ACADÉMICO DE LA DGAPA-UNAM.

AGRADECIMIENTOS

Un Agradecimiento muy especial a la *Universidad Nacional Autónoma de México*, MI UNIVERSIDAD, por brindarme la formación académica del más alto nivel, desde el bachillerato hasta la culminación de mis estudios doctorales.

Al *Dr. León Cintra McGlone* quién ha sido mi guía durante toda la etapa de mis estudios de posgrado, por su siempre oportunos comentarios, dirección, apoyo y confianza. Asimismo, a la *Dra. Sofía Díaz-Cintra*, por su ayuda, consejos y asesoramiento para el desarrollo y culminación de este proyecto.

Agradezco al *Dr. Miguel Angel Guevara Pérez* el tiempo y los conocimientos que siempre estuvo dispuesto a compartir conmigo, así como el apoyo brindado en el desarrollo, la adaptación y la actualización de los programas de cómputo empleados para realizar el presente proyecto. Además, como cotutor, por el seguimiento cercano a mi formación y la revisión de este manuscrito. Finalmente, por su incondicional amistad, sus consejos y apoyo.

Agradezco a *Pedro Medina* (IBB-UNAM), a *Óscar González* (CNB-UNAM) y al *M.V.Z. Martín García Servín* por el apoyo técnico brindado en el bioterio, con el cuidado de los animales y durante los implantes, registros electrofisiológicos y las histologías.

Al personal de la Biblioteca del Centro de Neurobiología, por su apoyo hemerográfico.

A todos los que me ayudaron de uno u otro modo, impulsándome a concluir con éxito esta etapa de mi formación académica: mi familia, mis amigas y amigos, mis compañeras y compañeros, mis profesores...

Manifiesto mi agradecimiento a los miembros del jurado por la revisión de este manuscrito y sus valiosos comentarios al respecto:

DR. LEÓN CINTRA MCGLONE
DRA. MARÍA CORSI CABRERA
DRA. MARÍA LUISA FANJUL DE MOLES
DR. ROBERTO AGUSTÍN PRADO ALCALÁ
DR. MANUEL SALAS ALVARADO
DR. JAVIER VELÁZQUEZ MOCTEZUMA
DR. CARLOS PAZ TRES

DEDICATORIA

Este manuscrito esta dedicado a las personas que amo, admiro y quiero rendir un pequeño homenaje:

A mis padres,

Miguel y Julia

por su fortaleza, confianza y paciencia.

A mis hermanos,

Carlos, Enrique y Leticia

Por su apoyo, hermandad y amistad.

Mis sobrinos,

Charly, Pau e Ixchel

Por el amor que desprenden en cada exhalación vital.

"Existe otra forma de tentación que entraña incluso mayor peligro. Es la enfermedad de la curiosidad...Ella nos impulsa a querer desentrañar los secretos de la naturaleza, secretos que escapan a nuestra comprensión, que nada pueden reportarnos y a los que los hombres debieran renunciar... En medio de esta inmensa jungla llena de asechanzas y de peligros he retrocedido y me he apartado de esas espinas."

San Agustín de Hipona

"Me alejé del pozo con un deseo enorme de aprender. Ahora todo tenía un nombre, y cada nombre alumbraba una idea. De regreso a la casa todos los objetos que palpaba parecían estremecerse llenos de vida. La causa de ello estaba en que ahora lo veía todo con la extraña y súbita visión que me había poseído."

Hellen Keller

"El funcionamiento conjuntado de ambos hemisferios cerebrales es el instrumento de que la naturaleza nos ha provisto para que podamos sobrevivir, y no es probable que la especie humana consiga ese objetivo sin hacer uso cabal y creativo de nuestro entendimiento."

Carl Sagan "Los dragones del Edén"

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES	8
LA MALNUTRICIÓN Y EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	8
<i>Los periodos críticos del desarrollo.</i>	8
<i>La nutrición inadecuada durante el desarrollo cerebral.</i>	10
LA FORMACIÓN HIPOCÁMPICA. GENERADOR DEL RITMO THETA.	15
<i>El Circuito Trisináptico Hipocámpico.</i>	16
<i>El Septum</i>	18
<i>Ritmo theta. Actividad Rítmica Lenta del Hipocampo.</i>	19
EL RITMO CIRCADICO DEL SUEÑO Y LA VIGILIA	22
<i>Los Ritmos Circadianos y el Núcleo Supraquiasmático</i>	22
<i>El Ritmo de Sueño-Vigilia y la Homeostasis del Sueño.</i>	23
REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CEREBRAL Y DEL SUEÑO.	26
<i>Integración de la actividad cerebral.</i>	26
<i>Estados de vigilancia en el ciclo de Sueño y Vigilia.</i>	28
<i>Vigilia (VIG)</i>	29
<i>Sueño de ondas lentas (SOL)</i>	30
<i>Sueño con Movimientos Oculares Rápidos (SMOR)</i>	31
TÉCNICAS DE ANÁLISIS DEL CICLO SUEÑO VIGILIA	32
<i>Análisis Visual</i>	32
<i>Análisis Espectral</i>	35
<i>Correlación y Coherencia electroencefalográficas.</i>	37
<i>Aplicaciones de ambos tipos de análisis:</i>	38
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	40
HIPÓTESIS	41
OBJETIVO GENERAL	42

OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
MATERIAL Y MÉTODO	43
<i>Animales</i>	43
<i>Método de malnutrición</i>	43
<i>Dietas</i>	44
<i>Procedimiento de registro</i>	46
<i>Análisis espectral</i>	50
<i>Análisis estadístico</i>	51
RESULTADOS	52
<i>Análisis del patrón temporal circadiano de la correlación inter e intrahemisférica y la actividad eléctrica cerebral en la rata normal de 30 días de edad.</i>	53
<i>Análisis Espectral de los Estados de Vigilancia.</i>	59
<i>Análisis de Componentes Principales para el Grupo Control</i>	65
<i>Análisis de la Potencia Relativa de los Estados de Vigilancia.</i>	69
<i>Análisis de la Correlación del ECoG Hipocámpica y Cortical</i>	73
<i>Análisis por grupo</i>	75
<i>Correlación Interhemisférica</i>	81
SUMARIO DE RESULTADOS	86
DISCUSIÓN	87
CONCLUSIONES	98
REFERENCIAS	99
Apéndice A	109
Apéndice B	110

RESUMEN

En los mamíferos, la malnutrición instalada prenatal (MP) o crónicamente (MC) afecta al sistema nervioso central (SNC), particularmente durante los periodos críticos de su desarrollo y puede producir cambios permanentes en algunas de las estructuras del SNC, alterando el ciclo de sueño y vigilia. En la rata, un mamífero altricio, el electrocorticograma (ECoG) posnatal madura por acontecimientos electrofisiológicos marcados. Los cambios ontogenéticos, observados mediante el análisis espectral, en la actividad hipocámpica durante el desarrollo también pueden ser considerados como indicadores fisiológicos. Así, la actividad electrocorticográfica de los estados de vigilancia se considera índice de organización neuronal, diferenciación y grado de madurez funcional del sistema nervioso, y puede revelar algunas alteraciones que afectan directamente la adecuada función del SNC.

El objetivo de este estudio fue analizar la actividad eléctrica del ECoG y de la Formación Hipocámpica, a intervalos de 1 Hz (1-32 Hz), las bandas de frecuencias características así como la correlación intra e interhemisférica de la actividad eléctrica de los estados de vigilancia en ratas con MP y MC de 30 días de edad.

Se utilizaron treinta ratas macho de la cepa Sprague-Dawley (10 controles (Co), 10 MP y 10 MC). Las crías nacidas de madres malnutridas fueron intercambiadas a hembras nodrizas normales (MP) o bien, continuaron con sus madres malnutridas hasta el destete (MC). Se distinguieron tres estados de vigilancia: vigilia (VIG), sueño de ondas lentas (SOL) y el sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR). Cada registro se digitalizó independientemente con ayuda de un convertidor A/D en una computadora 486. Se registraron secuencialmente segmentos de 4 seg, utilizando una frecuencia de muestreo de 128 Hz. Una vez digitalizados, se escogieron por animal, 30 segmentos seleccionados al azar libres de artefactos de cada uno de los tres estados de vigilancia. El análisis espectral se llevó a cabo empleando la rutina de la transformada rápida de Fourier. También se obtuvieron los coeficientes de correlación inter e intrahemisférica cortico-cortical, cortico-hipocámpica o hipocámpico-hipocámpica.

En el grupo Co se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para determinar cuales frecuencias covarían juntas y cuales son independientes, utilizando una resolución de 1 Hz. Para comparar los grupos experimentales se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey post hoc.

El análisis de frecuencia espectral con resolución de 1Hz, mostró para la VIG y SMOR, un pico en la potencia relativa de la banda del ritmo theta. El valor de este pico para el SMOR fue de 27% de la potencia relativa en la frecuencia de 7 Hz. Sin embargo, para la VIG, este pico de potencia relativa de 12%, se presentó en la frecuencia de 8Hz. El análisis estadístico reveló diferencias significativas para ambos estados de la vigilancia.

Cuando se realizó el ACP de la actividad del ECoG, la VIG mostró tres componentes principales (CP): 1) eigenvector de 11-18 Hz, 2) 1-2 Hz, 7-10 Hz 17-25 Hz, y, 3) 3-8 Hz. El SOL presentó dos CP: 1) 3-6 Hz, 15 Hz, y 18-25 Hz, y, 2) 2-3 Hz, 9-14 Hz, y 19-25 Hz; y el SMOR mostró dos componentes: 1) 1-5 Hz, y 7-17 Hz, y, 2) 6 Hz y 18-25 Hz. Cuando comparamos los espectros de la frecuencia de la potencia relativa de los estados de la vigilancia, en el Co y grupos malnutridos encontramos en la VIG que ambos, el MP y el MC mostraron diferentes picos significativos, en 7 y 6 Hz respectivamente, en comparación con el de 8 Hz mostrado por las ratas control. El grupo Co en esta edad mostró un pico en 1-2 Hz; sin embargo, las malnutridas no presentaron este pico. También, la potencia relativa de las frecuencias de SOL del grupo del MP se aumentó significativamente con respecto al grupo Co. EL SMOR en los MP y MC mostró un pico en 7 Hz como el grupo Co, pero el MC mostró una disminución significativa de la amplitud.

El análisis espectral de la potencia del ECoG mostró un arreglo claramente independiente, según cada estado de vigilancia, cuando fueron analizados con ACP en las ratas normales de 30 días de edad. La malnutrición proteínica prenatal y crónica altera el desarrollo del ECoG, retrasando la frecuencia del pico de la banda del ritmo theta (6 Hz en el MC; 7 Hz en el MP y 8 Hz en el Co) durante la vigilia. También, la malnutrición hipoproteínica interrumpe el pico en la frecuencia de 2 Hz presente a 30 días de la edad en el grupo control. La malnutrición crónica reduce la amplitud pero no la frecuencia del pico del ritmo theta de 7 Hz durante sueño MOR.

La malnutrición hipoproteínica crónica afecta la dinámica y la armonía de la actividad eléctrica en la formación hipocámpica de ambos hemisferios, así como la correspondencia de ésta con los circuitos corticales. La malnutrición prenatal produce un aumento en la correlación hipocámpico-cortical en los estados de vigilancia, en la mayoría de las frecuencias estudiadas (1-32 Hz), sugiriendo que se afecta la integridad funcional en los circuitos hipocámpico-corticales.

ABSTRACT

Malnutrition in mammals installed prenatally (PM) or chronically (CM) affects the central nervous system (CNS), particularly during the critical period of its development and may produce permanent changes in some CNS structures, altering the vigilance states of the sleep-wake cycle. In the rat, an altricial mammal, postnatal electrocorticogram (ECoG) matures in steps marked by electrophysiological events. The ontogenetic changes observed in the hippocampal power spectra obtained during the rapid eye movements sleep (REMS) are also important. The electrocorticographic activity of the vigilance states is an index of neuronal organization, differentiation and level of functional maturity of the nervous system and may reveal some alterations that directly disrupt the adequate function of the CNS.

The purpose of this study was to analyze the ECoG and hippocampal formation electric activity, at one Hertz interval (1-32Hz), the characteristic frequency bands as well as the intra and interhemispheric correlation of the electrical activity at the vigilance states in PM and CM 30 day-old rats.

Thirty 30-day-old Sprague Dawley strain male rats were used (10 controls (Co), 10 PM and 10 CM). Pups born from malnourished mothers were cross-fostered to dams fed normal diet (PM) or continued with their malnourished mothers (CM) until weaning. Pups were maintained in their diets until the experiment ended. Three vigilance states were distinguished: waking (WAK), slow wave sleep (SWS) and REMS. For each animal, all recordings obtained were independently digitized by means of a computer with an A/D converter. Each recording was digitized sequentially in 4-s segments using a sampling rate of 128 Hz. Once digitized, 30 computer randomized, artifact-free segments from each of the 3 vigilance states per animal were chosen for analysis. Power spectral analysis was performed using a Fast Fourier transform (FFT) routine. Then, intra and interhemispheric cortico-hippocampal, cortico-cortical or hippocampo-hippocampal correlation analyses were carried out.

We carried out, in Co group, a principal component analysis (PCA) in order to investigate which frequencies covaried together and which were independent, using 1 Hz resolution for each subject with ECoG frequencies as variables. ANOVA statistical analysis and Tukey post hoc test were applied to compare the experimental groups. The spectral frequency analysis, 1Hz resolution, showed, for WAK and REMS, a peak in the relative power of traditional theta band. The value of this peak for REMS was of 27% of the relative power density on 7 Hz frequency. However for WAK, this peak with a relative power density of 12%, was present at 8 Hz frequency. Both peaks showed different amplitude and conformation. Statistical analysis revealed significant differences for both vigilance states.

When the ECoG activity PCA was performed, WAK showed three principal components: 1) 11-18Hz eigenvector, 2) 1-2Hz, 7-10Hz, and 17-25Hz eigenvectors, and 3) 3-8Hz eigenvector. The SWS presented two principal components: 1) 3-6Hz, 15Hz, and 18-25Hz eigenvectors, and 2) 2-3Hz, 9-14Hz, and 19-25Hz eigenvectors; and REMS showed two components: 1) 1-5Hz, and 7-17Hz eigenvectors, and 2) 6Hz and 18-25Hz eigenvectors. When we compared the frequency spectra of relative power density of vigilance states, in Co and malnourished groups we found in WAK that both, PM and CM showed significant different peaks, at 7 and 6 Hz, respectively, in comparison with 8 Hz shown by control rats. The Co group at this age showed one peak at 1-2 Hz; however malnourished rats of this age, did not present this peak. Also, the relative power density of SWS frequencies of the PM group was significantly increased in relation to the control group. REMS in PM and CM showed both a peak at 7 Hz, like the Co group, but CM showed a significant amplitude decrease.

Power spectral analysis of the cortical ECoG showed a clear independent arrangement, according to each vigilance state, when they were performed with PCA in normal 30-day-old rats. Prenatal and chronic protein malnutrition alters the development of the ECoG, delaying the frequency of the theta band peak (6Hz in CM; 7Hz in PM and 8Hz in Co groups) during waking. Also, low protein malnutrition disrupts the peak on the 2 Hz frequency present in control group at 30 days of age. Chronic protein malnutrition reduces the amplitude but not the frequency of 7 Hz theta peak during REM sleep.

Chronic protein malnutrition affects the communication and harmony of the electrical activity in the hippocampal formation of both hemispheres, as well as the correspondence of this one with the cortical circuits. Prenatal malnutrition produces an increase in the hippocampo-cortical correlation of the vigilance states, in most of the studied frequencies (1-32 Hz), suggesting that the functional integrity in the hippocampo-cortical circuits is affected.

INTRODUCCIÓN.

Existen evidencias que indican que la nutrición inadecuada puede inducir alteraciones en el crecimiento y desarrollo de un individuo. Actualmente en los países en desarrollo, el 36% de niños menores de 5 años (más de 200 millones) padecen algún grado de malnutrición y cuando se asocia con otras afecciones es causa de un 55% de mortalidad infantil (Fig. 1) (UNICEF, 1998). Se sabe también que los niños malnutridos sufren de la pérdida de sus capacidades mentales, e inclusive en los casos más dramáticos, pueden crecer con retraso mental o discapacidades físicas. Por estas razones, es de la mayor importancia lograr un conocimiento definitivo, de los efectos que producen la desnutrición y la malnutrición sobre el desarrollo cognoscitivo y la función cerebral tanto a corto como a largo plazo, así como posibles efectos generacionales (Barrett y Frank, 1987).

Los estudios en poblaciones humanas han mostrado los efectos adversos que produce la malnutrición localizada en el periodo posnatal (Galler y Ross, 1993). Durante los periodos de crecimiento cerebral rápido y el desarrollo, se pueden observar profundas alteraciones sobre el sistema nervioso y el comportamiento. Aunado a éstas, los niños malnutridos presentan reducción en el peso cerebral, actividad electroencefalográfica patológica y respuestas anormales a potenciales evocados auditivos (Winick y Rosso, 1969; Chase y cols., 1974; Nelson, 1959), los menores son apáticos, poco activos y presentan retraso en todas las escalas de desarrollo.

Aunque pudiera esperarse una recuperación física en la adolescencia (Galler y cols., 1987a), el daño en las funciones cerebrales y conductuales persiste durante esta etapa y hasta la edad adulta al menos en la mitad de los individuos expuestos a malnutrición infantil (Galler y cols., 1987b, c; Galler y cols., 1990).

MALNUTRICIÓN Y MORTALIDAD INFANTIL

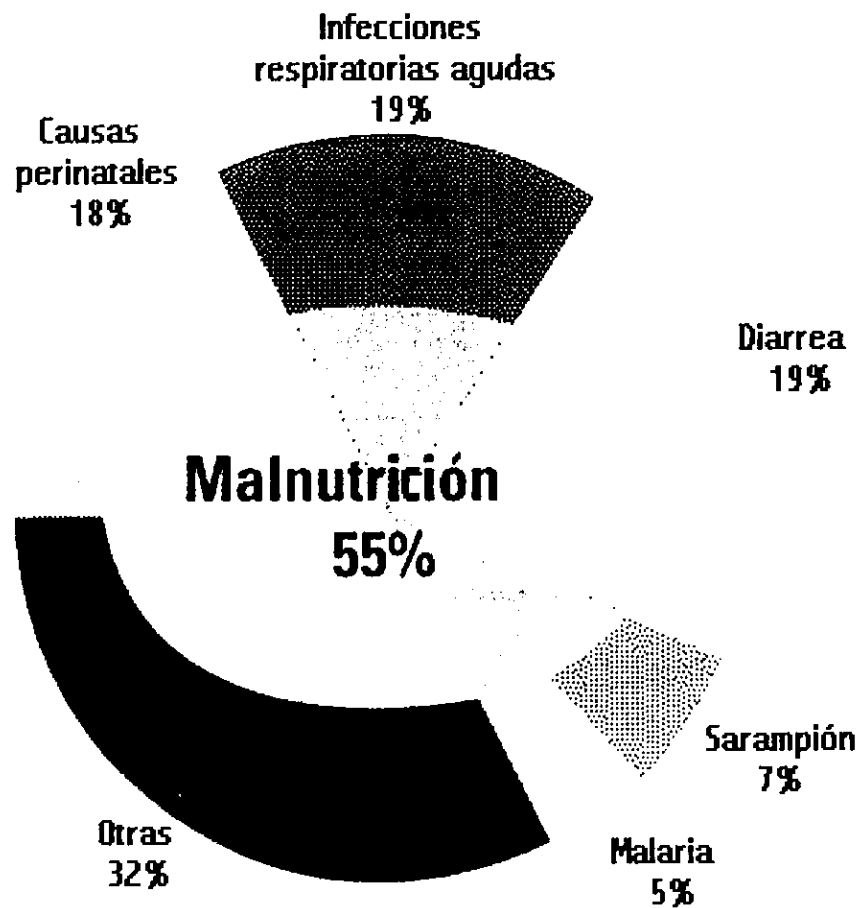


Fig. 1. La malnutrición, además de las alteraciones que provoca en el crecimiento y desarrollo de un individuo, es un factor relacionado con más del 50% de la mortalidad ocurrida por otras afecciones en niños menores de 5 años de los países en desarrollo Fuente: OMS, basado en C.J.L. Murray and A.D. Lopez, The Global Burden of Disease, Harvard University Press, Cambridge (USA) 1996 and 'Epidemiological evidence for a potentiating effect of malnutrition on child mortality' in American Journal of Public Health 1993-83. UNICEF 1998.

Para comprender las consecuencias funcionales que produce la malnutrición sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) de los mamíferos, los modelos animales han probado ser de particular utilidad para proporcionar información de cómo afecta la malnutrición el desarrollo mental y cerebral (Galler y Kanis, 1987). Como un modelo animal apropiado, se ha empleado a la rata, ya que el desarrollo de su SNC es muy similar al del humano, por ser ambas, especies altriciales, además de que pueden ser completamente eliminados los factores sociales y las condiciones ambientales en el desarrollo temprano

de las crías malnutridas, estos factores que acompañan a muchas formas de malnutrición pueden tener efectos sobre el desarrollo conductual y cerebral independientes de aquellos producidos únicamente por la malnutrición.

Se han diseñado modelos de malnutrición por reducción en la cantidad de proteína (caseína) en la dieta del animal durante los periodos pre y posnatal, empleando dietas cuyo aporte de proteínas es del 8% (malnutrición moderada) y 6% (malnutrición grave) (Morgane y cols., 1978). Los modelos antes mencionados permiten valorar el daño que producen la malnutrición crónica grave o moderada, así como la carencia de proteína (nutrimiento de gran importancia en la dieta del neonato, en particular la caseína que se encuentra en la leche materna) durante los periodos críticos del desarrollo, sobre todo en los procesos de maduración del SNC y el establecimiento de sus funciones. En estudios previos de este grupo (Durán y cols., 1999; Cintra y Durán, 1997) se emplearon 2 modelos de malnutrición hipoproteínica grave (6% de caseína): a) crónica (M_{Cr}), es decir, pre y posnatal; y b) sólo durante el periodo prenatal (M_{Pr}). En ambos modelos la malnutrición se instaló durante los periodos críticos de desarrollo cerebral, y se analizaron sus efectos sobre el establecimiento y regulación de la actividad eléctrica cortical en la rata infante y pre-pubescente. Estos estudios mostraron que: 1) la malnutrición crónica produce alteraciones severas en la manifestación homeostática y circádica de los estados de vigilia y la actividad eléctrica cerebral, así como en el desarrollo del organismo en general; 2) aunque el establecimiento de una dieta adecuada al nacimiento permite a la rata prenatalmente malnutrida alcanzar el peso y la talla de los animales controles. Esta malnutrición produce alteraciones moderadas en la actividad eléctrica cerebral, los estados de vigilia y la ritmicidad circádica del ciclo de sueño-vigilia (Durán, 1993; Galván, 1993; Durán 1995).

Otros estudios indican que las dietas hipoproteínicas producen alteraciones en la síntesis de proteínas (Stern y cols., 1976; Lathja y cols., 1987; Azzolin y cols., 1991; Yokogoshi y cols., 1992). Dichas alteraciones se han relacionado con retrasos o avances de la fase circádica del ciclo de sueño-vigilia (Durán, 1993; Durán, 1995; Tobler y cols., 1995). Asimismo, se han reportado daños anatómicos provocados por estos modelos de malnutrición en áreas cerebrales específicas, como la formación hipocámpica (Cintra y cols., 1990; Díaz-Cintra y cols., 1991; Granados, 1995; Cintra y cols., 1997a, b),

estructura que forma parte de los procesos de atención, memoria y aprendizaje, además de que su actividad eléctrica, el ritmo theta, constituye un componente fundamental de la actividad cerebral y de los estados de vigiliencia en la rata.

Por todo lo anterior, en el presente proyecto se pretenden evaluar los efectos producidos por la malnutrición crónica y sólo prenatal sobre la actividad eléctrica tanto del hipocampo como de la corteza cerebral, empleando un análisis espectral de las bandas de frecuencia y un análisis de correlación entre ambos hemisferios en ratas juveniles (30 días de edad).

Se escogió la edad de 30 días en la rata, porque entre los 30 y 45 días posnatales, ésta aún no ha completado la maduración fisiológica de los ciclos actividad-reposo y sueño-vigilia (Jouvet-Mounier y cols., 1970; Alföldi y cols., 1990) que hemos considerado como índices de madurez funcional. Por otro lado, los estudios morfológicos llevados a cabo en diversas regiones del SNC han revelado que en esta edad en particular, se presentan alteraciones mínimas en el tamaño del soma neuronal o en las ramificaciones dendríticas producidas por la malnutrición hipoproteínica crónica o prenatal (Díaz-Cintra y cols., 1981b, 1984; Cintra y cols., 1997a, b). Estos hallazgos sugirieron que anatómicamente se produce un "efecto de mejoría", quizá como último recurso para mantener intacta la fisiología del SNC. Sin embargo, en los resultados obtenidos por electrofisiología, tanto los procesos de maduración de los estados de vigiliencia como la actividad eléctrica cerebral se encuentran alterados por la malnutrición aunque aún no se determina la gravedad y la repercusión de estas alteraciones a corto o largo plazo (Durán, 1993; Galván, 1993; Durán, 1995; Cintra y Durán, 1997 y Durán y cols., 1999).

ANTECEDENTES

LA MALNUTRICIÓN Y EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

Los periodos críticos del desarrollo.

El desarrollo del sistema nervioso de los mamíferos involucra una serie de cambios secuenciales y altamente regulados, los cuales incluyen división celular (neurogénesis y gliogénesis), migración celular a las áreas blanco del cerebro, diferenciación celular (incluyendo arborización dendrítica, extensiones axonales y formación de circuitos), mielinización, formación de sinapsis (sinaptogénesis), síntesis y liberación de neurotransmisores y muerte celular selectiva durante todo el proceso de desarrollo. Estos diferentes procesos tienen distintas tablas de tiempo dependiendo de las diferentes especies, iniciando principalmente, en la etapa prenatal y extendiéndose más allá de nacimiento, otros, sin embargo, comienzan durante el periodo posnatal (Fig. 2).

Estos cambios secuenciales o procesos de maduración son susceptibles de ser modificados con gran facilidad por estímulos exógenos (v.gr. la malnutrición), o endógenos (v.gr. las hormonas). Esta vulnerabilidad temporal ha sido denominada periodo crítico del desarrollo (Dobbing 1968, 1970, 1990; Kretchmer, 1989; Smart, 1991), en el cual, la naturaleza y la severidad de la perturbación dependerá de la sincronización del estímulo con respecto al estado del desarrollo. Así, los procesos que ocurren simultáneamente con la perturbación serán afectados así como aquellos que ocurran después como resultado de una cascada de efectos (Dobbing, 1972; Rodier, 1980; Smart, 1991). Sin embargo, los procesos de desarrollo que se completan antes de que suceda el daño o el estímulo, no se verán afectados. Por otra parte, aunque se encuentra enfocado principalmente a las consecuencias perjudiciales, este periodo podría ser un momento oportuno para resaltar el potencial de desarrollo del SNC (Kretchmer, 1989).

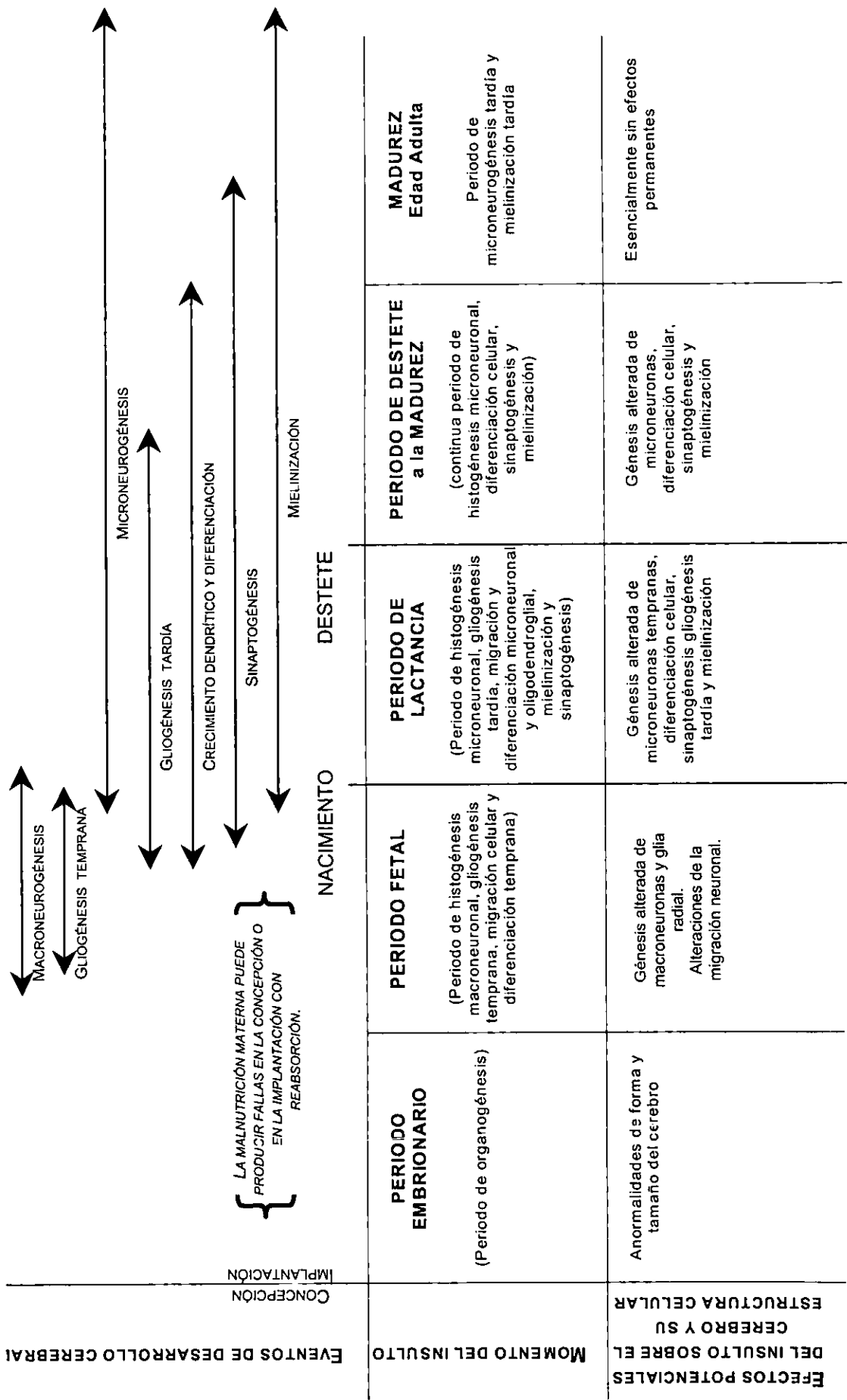


Fig. 2 Esquema de los procesos generales (periodos críticos) de desarrollo cerebral en mamíferos altriciales. Se indican los efectos potenciales provocados sobre el cerebro y su organización celular por un insulto como la malnutrición. (Modificado de Morgane y cols., 1993).

Se ha considerado que los periodos críticos de desarrollo cerebral, en los cuales se presentan las tasas máximas de neurogénesis y migración neuronal, se revisten de mayor importancia que el periodo de crecimiento cerebral rápido ("brain growth spurt"), ya que se puede provocar disminución y alteración de sinapsis, pérdida de células nerviosas, fracaso en la migración o alteraciones en la circuitería neuronales (ver Fig. 2).

Por otro lado, el curso adecuado de estos procesos de desarrollo cerebral repercutirá en buena medida en un sustrato neuro-anatómico íntegro de las estructuras y circuitos neuronales involucrados en las funciones de integración del SNC (el ciclo de sueño de vigilia, la conciencia, el lenguaje, la memoria, el aprendizaje y los recuerdos).

La nutrición inadecuada durante el desarrollo cerebral.

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

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

Los métodos experimentales más usados para inducir una mala nutrición incluyen:

- 1) alimentación de la madre con una dieta baja en proteína,
- 2) reducción de la cantidad de la dieta,

- 3) reducción del número de glándulas mamarias en la madre para la succión de leche por parte de las crías,
- 4) aumento del número de crías en la camada,
- 5) rotación de las crías entre las madres y una incubadora, y,
- 6) alimentación artificial de las crías en un ambiente controlado.

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

Hasta hace poco tiempo se había sugerido que durante el desarrollo prenatal, el organismo de la madre amortiguaba la falta de nutrientes en el feto, por lo que el desarrollo de su SNC estaría protegido contra la acción de una mala nutrición prenatal, aunque sería vulnerable durante el periodo posnatal temprano (Dobbing y Sands, 1979). Actualmente, se sabe que la malnutrición y la desnutrición, durante el desarrollo pre y posnatal, producen daños irreversibles en las regiones cerebrales de formación perinatal (Morgane y cols., 1993). Dentro de estas estructuras se encuentran los núcleos del tallo cerebral rafe dorsal y el *Locus coeruleus* (Morgane y cols., 1978, 1982; Díaz-Cintra y cols., 1981a, b, 1984; Cintra y Díaz-Cintra, 1985), la formación hipocámpica (Paula-Barbosa y cols., 1989; Cintra y cols., 1990; Díaz-Cintra y cols., 1991; Bedi, 1991; Cintra y cols., 1997a, b) y las áreas visual (Díaz-Cintra y cols., 1990) y temporal de la neocorteza (Salas y cols., 1974). Los estudios histológicos han permitido conocer que la malnutrición crónica ligera (provocada por la ingesta de dietas con un contenido de 8% de caseína) se asocia con reducciones tanto en el tamaño como en el peso cerebrales (Cintra y cols., 1990), así como en el

tamaño del soma de las neuronas de los núcleos del rafe dorsal (Díaz-Cintra y cols., 1981b). En la rata malnutrida, se ha reportado una disminución del número de espinas dendríticas en las neuronas de los núcleos del rafe dorsal y el *Locus coeruleus* a los 30 días de edad, aunque en los animales adultos malnutridos (90 y 220 días de edad) en dichos núcleos la densidad dendrítica se encuentra aumentada, este fenómeno sugiere el establecimiento de un mecanismo de adaptación, el cual le permite al animal malnutrido incrementar la capacidad y actividad sinápticas de las neuronas de dichos núcleos (Díaz-Cintra y cols., 1981b, 1984).

El modelo de malnutrición por reducción de proteína al 6 y 8% en la rata fue diseñado en la *Worcester Foundation for Experimental Biology, EUA*, con el objeto de replicar experimentalmente los síndromes de Marasmo y Kwashiorkor que se presentan en el humano. Se utilizaron dos dietas con diferente contenido de proteína, la primera para producir una malnutrición moderada con 8% de caseína, y la otra grave con 6% de caseína (la dieta normal requiere de 25% de caseína) durante los periodos pre y posnatal (Morgane y cols., 1978). Aunque los modelos antes mencionados no replican fielmente estos síndromes han permitido interpretar los efectos que produce la falta de proteína sobre los procesos de desarrollo y maduración cerebrales. Sobre todo permiten estudiar el daño que produce la malnutrición crónica grave, así como determinar si pueden ser revertidos o amortiguados algunos de sus efectos al someter al neonato malnutrido prenatalmente, a una nutrición adecuada en el periodo posnatal temprano (modelo de malnutrición prenatal). Desde 1979, Cintra y cols., han empleado el modelo de malnutrición hipoproteínica, reduciendo la cantidad de caseína al 8% y posteriormente al 6% en la dieta.

Los estudios sobre la electrofisiología cortical indican que la malnutrición y la desnutrición conducen a un aumento en la actividad eléctrica de ondas lentas en la corteza cerebral (Salas y Cintra, 1975; Morgane y cols., 1985; Bronzino y cols., 1987). En los animales malnutridos se han observado alteraciones en la arquitectura del sueño, en su ciclo y fase circádicos, además de que presentan avances o retrasos en las fases circádicas de los estados de vigilancia (Cintra y cols., 1988, Durán, 1993). Estudios morfológicos llevados a cabo por Cintra y cols., (1994) muestran que la malnutrición proteínica crónica produce reducciones severas a largo plazo en el tamaño celular

de las células del núcleo supraquiasmático (NSQ), sugiriendo que estas alteraciones del sustrato nervioso son las responsables de las modificaciones en el comportamiento circádico y la regulación del sueño observadas en los animales malnutridos crónicamente. Asimismo, la malnutrición hipoproteínica produce alteraciones en la generación y consolidación de la potenciación a largo plazo en el hipocampo (Bronzino y cols., 1996). También, se ha reportado que las concentraciones basales de serotonina en los cerebros de ratas malnutridas son significativamente mayores a las encontradas en ratas normales (Resnick y Morgane, 1984; Morgane y cols., 1993). En la formación hipocámpica se ha encontrado una disminución de la fibras serotoninérgicas producida por la malnutrición hipoproteínica (Morgane y cols., 1993). En un estudio reciente, Mokler y cols. (1999), reportaron que la estimulación eléctrica del núcleo del rafe medial en la rata malnutrida, produce una disminución en la liberación de la serotonina sobre el hipocampo dorsal, efecto que no ocurre tan dramáticamente en el animal normal.

Por otro lado, Cintra y cols., en ratas jóvenes de 30 y 60 días de edad, han empleado modelos de privación de sueño en dos de sus modalidades, la privación total de sueño utilizando un cilindro rotatorio (Galván, 1993), y la privación selectiva de SMOR inducida por la colocación del animal en una plataforma rodeada de agua (Durán, 1993, 1995). La malnutrición crónica produce alteraciones significativas en la consolidación de los estados de vigilancia, representadas por un aumento en la cantidad del SOL y del SMOR y una disminución de la VIG; lo cual da una configuración diferente a la arquitectura del ciclo sueño-vigilia (Durán, 1993; Galván, 1993). Además, se observó que la distribución temporal circádica de este ciclo se modifica en los MCr, principalmente en los días posteriores a la privación de sueño. Con base en estos resultados se sugirió que la malnutrición parecía alterar la manifestación homeostática y circádica de los estados de vigilancia, al producir un retraso en la maduración de los sistemas fisiológicos que regulan dichos estados.

Este grupo realizó el análisis espectral de la actividad eléctrica cortical, en animales con malnutrición hipoproteínica crónica y prenatal, a dos edades, 30 y 60 días ante un protocolo de privación selectiva de SMOR y una situación de "conflicto", es decir, comenzando la privación en la

fase de actividad (oscuridad) y finalizando al término de la fase de reposo, provocando así un "conflicto" entre el proceso homeostático manifestado por el aumento a la propensión al sueño, causada por 24 horas previas de privación, y una tendencia por la vigilia y la actividad como consecuencia del proceso circádico y la oscuridad. En estos grupos, control (Co), malnutridos (MCr) y malnutridos prenatalmente (MPr), el registro electrográfico basal se obtuvo durante 24 horas (capturando el ECoG en una computadora), al día siguiente de este registro se privó a las ratas de SMOR durante 24 horas y durante 72 horas se registró la recuperación. Al comparar las horas de los cambios de oscuridad-luz y luz-oscuridad, en los animales MCr de 30 días de edad, se observó una disminución significativa de la potencia relativa de la banda delta en los días 1 y 2 de recuperación, no así en los MPr. Los MCr, al ser comparados con los MPr mostraron una reducción en la potencia relativa de la banda theta durante el día 2 de recuperación. La potencia relativa de la banda de actividad rápida aumentó en los MCr durante el día basal y los 3 días de recuperación, en tanto que en los MPr la potencia relativa de la actividad rápida se redujo durante el día basal y el tercero de recuperación. Los MCr de 60 días presentaron un aumento en la potencia relativa de la banda de frecuencia theta en su componente de SMOR (4-7 Hz), y theta de vigilia (7-12Hz) en diversos días del estudio (Durán, 1995).

En una serie de estudios realizados por este grupo (Cintra y cols., 1990) en el hipocampo de la rata malnutrida, se observó que la malnutrición crónica (MCr) moderada (8% de caseína) produce reducciones en el tamaño del soma, así como del número de ramificaciones y espinas dendríticas de las células granulares del giro dentado en animales de 30, 90 y 220 días de edad. Se encontraron efectos similares sobre este tipo celular en animales sometidos a una malnutrición prenatal (MPr) utilizando una dieta con 6% de caseína sólo durante la gestación (Díaz-Cintra y cols., 1991). Estos resultados muestran que la MPr produce daños en el nivel celular, que no pueden ser revertidos por una subsecuente compensación nutricional posnatal. En un estudio reciente se confirmaron los efectos irreversibles a largo plazo provocados en el hipocampo por una MPr. Se analizó el área de distribución del plexo de las fibras musgosas del giro dentado de la formación hipocámpica en ratas normales y con MPr de 4 edades (15, 30, 90 y 220 días posnatales), encontrándose reducciones del área de este plexo en los grupos de 15, 90 y 220

días de edad. Estos hallazgos sugieren que la información transmitida a través del circuito trisináptico del hipocampo, pudiera ser deficiente, ya que las células granulares representan el primer relevo sináptico del circuito (Granados, y cols., 1995; Cintra y cols., 1997a, b).

La formación hipocámpica es particularmente vulnerable a la malnutrición proteínica prenatal, se ha observado que la plasticidad de esta estructura se disminuye significativamente, la adquisición del proceso de "kindling" es más lenta y la potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés) también se encuentra retrasada (Bronzino y cols., 1991, 1996), además, se ha reportado un aumento significativo de la inhibición en esta estructura, en particular en el giro dentado (Bronzino y cols., 1997). Estos hallazgos sugieren alteraciones funcionales críticas en la circuitería inhibitoria que pueden sumarse a muchos de los efectos a largo plazo producidos por la malnutrición hipoproteínica.

LA FORMACIÓN HIPOCÁMPICA. GENERADOR DEL RITMO THETA.

La formación hipocámpica (FH) es un componente importante dentro de los circuitos cerebrales del sistema límbico ya que conecta las estructuras neocorticales y las áreas del tallo cerebral. Su localización anatómica le permite procesar información derivada de las áreas de asociación polimodal, incluyendo las cortezas frontal y temporal, redistribuyéndola a las regiones corticales y subcorticales a su vez involucradas en la modulación de varios procesos conductuales (Fig. 3).

La FH muestra una arquitectura y organización anatómica muy simple, además, sus neuronas son generadas en un modo ordenado y de acuerdo a gradientes espacio-temporales. Estas características permiten que frecuentemente sea utilizada como un modelo para estudiar la biología de las lesiones neurales, sus consecuencias funcionales, su extensión y los mecanismos subyacentes de la plasticidad neural y conductual, así como la transmisión sináptica en el cerebro de mamíferos.

El hipocampo participa en procesos de memoria y aprendizaje y en él convergen, como se ha mencionado, múltiples proyecciones neocorticales de áreas de asociación y sensoriales proveyéndolo de información sensorial combinada, motora y límbica (Cohen y Eichenbaum, 1993). Así, recibe proyecciones serotoninérgicas de los núcleos del rafe dorsal y medial a través de la corteza entorrinal, esta vía penetra por el *subiculum* y *presubiculum* para llegar al *stratum lacunosum moleculare* del hipocampo, donde hace contacto con las dendritas apicales de las neuronas de los campos CA1 y CA3, cruza la fisura hipocámpica en la cresta y se bifurca hacia la lámina dorsal y ventral de la capa molecular, donde hace sinapsis con las dendritas apicales de las células granulares del giro dentado, que es el principal receptor de las proyecciones del patrón perforante.

El hipocampo proyecta al diencefalo por dos vías: a) el fornix postcomisural que termina en el hipotálamo, hacia el cuerpo mamilar, al cerebro medial-rostral y al núcleo talámico anterior; y b) una vía indirecta formada por fibras comisurales que provienen de los campos CA1 y CA3 y el *subiculum* terminando en el área septal a través del núcleo septofimbrial y el núcleo habenular medial y finalmente proyecta hacia el hipotálamo (Cohen y Eichenbaum, 1993; Amaral y Witter, 1989; Gaarskjaer, 1985).

El Circuito Trisináptico Hipocámpico.

Las células del giro dentado de la FH, además de ser el receptor principal de las proyecciones del patrón perforante que provienen de la corteza entorrinal, constituyen el primer relevo en el circuito trisináptico del hipocampo. Las fibras musgosas del giro dentado que hacen sinapsis sobre las dendritas apicales de las células piramidales del CA3, integran el segundo relevo; estas neuronas proyectan axones conocidos como fibras colaterales de Schaffer que conectan con el *stratum radiatum* del CA1, haciendo sinapsis con las dendritas de las neuronas piramidales de este campo, formando de esta manera el tercer y último relevo sináptico del circuito (Amaral y Witter, 1995).

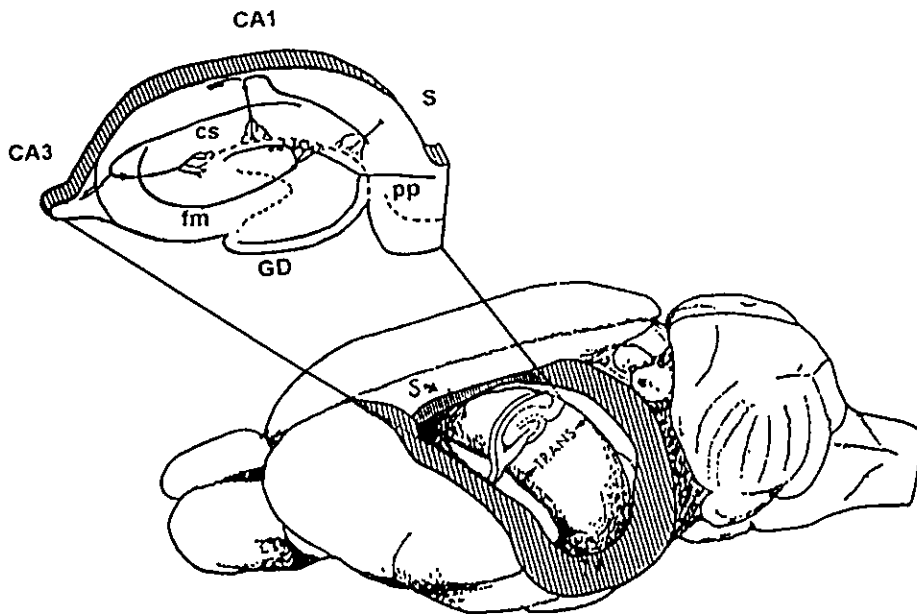


Fig. 3. Se muestra la posición anatómica de la formación hipocámpica en el cerebro de la rata. El esquema superior izquierdo es una representación de los elementos neuronales principales y las conexiones intrínsecas (es decir, el circuito trisináptico de la formación hipocámpica). GD= giro dentado, fm= fibras musgosas, pp= patrón perforante, cs= fibras colaterales de Schaffer, CA1= *Cornus ammonis* 1, CA3= *Cornus ammonis* 3, S= *septum* (Modificado de Amaral y Witter, 1989).

El Septum

Otro componente importante del sistema límbico es el área septal. El septum ha sido descrito como el marcapaso de la actividad rítmica lenta del hipocampo. Asimismo, está involucrado en el control de varios procesos fisiológicos y conductuales relacionados a las funciones cognoscitivas superiores (vgr. memoria y aprendizaje), emociones, miedo, agresividad y estrés, así como de regulación autonómica (ingesta de agua y alimento, hibernación, fiebre, osmorregulación y respuesta humoral inmune).

El *septum* es una estructura telencefálica, que subyace a las regiones anterior y medial del cuerpo caloso, entre los cuernos de los ventrículos laterales y dorsal a la porción de la línea media de la comisura anterior. Esta limitado al frente por el rudimento hipocampal anterior y por detrás por las comisuras hipocampales. Los islotes de Calleja separan ventrolateralmente al *septum* del núcleo *acumbens*. La región septal se ha dividido en porciones medial, lateral y posterior, sobre la base de su topografía, citoarquitectura y conexiones.

El *septum* lateral es subdividido en tres partes: dorsal, intermedio y ventral, de acuerdo al tamaño y densidad de sus neuronas. La división septal medial puede ser subdividida dorsalmente en el núcleo septal medial, y ventralmente se sitúa el núcleo de la banda diagonal de Broca y también es referido como el complejo *septum* medial-banda diagonal. Dentro de la división del *septum* posterior, se distinguen dos subnúcleos, el núcleo septofimbrial bilateral y un núcleo septal triangular pequeño (Swanson y Cowan, 1979).

Se ha estudiado la función del área septal lesionando algunos de sus núcleos. Algunos roedores, como la rata y el ratón, al ser lesionados en el área septal, exhiben reacciones de ira y emotividad aumentadas inmediatamente después de la cirugía, aunque desaparecen después de unas dos o tres semanas, lo que se conoce como síndrome septal.

Estas reacciones de "hiper-emotividad" también se han asociado con la edad en que se lesionan los animales, esto es, lesiones producidas poco después del destete, en ratas Wistar, producen un periodo transitorio de "hiper-emotividad" mientras que aquellas que se producen entre los 55 y 65 días de edad, provocan efectos más persistentes (Phillips y Lieblich, 1972).

Se ha encontrado que al lesionarse las áreas septales anterior y media se produce hiperactividad, y que las lesiones producidas en la región ventral del área septal posterior también aumentan considerablemente la actividad. Las lesiones que se ubican entre la comisura anterior y los brazos verticales del área diagonal de Broca son asociados con la ira o con aspectos defensivos (Albert y Chew, 1980). Por otro lado, el núcleo medial y la banda diagonal han sido considerados como una entidad funcional y existe evidencia de que la cantidad de hiperactividad pudiera estar en función del tamaño de lesión en esta unidad (Isaacson, 1982).

Por todo lo anterior, el área septal se puede considerar fisiológicamente como una estructura cerebral involucrada en aspectos no únicamente emocionales y cognoscitivos, sino en la regulación de la actividad motora en los roedores, en donde se deben considerar las señales marcapaso y las conexiones colinérgicas hacia el hipocampo.

Ritmo theta. Actividad Rítmica Lenta del Hipocampo.

El ritmo theta del hipocampo es un patrón electroencefalográfico regular de 4-12 Hz, conocido también como actividad rítmica lenta (ARL), y es generado por las células de la FH. Las neuronas marcapaso del *septum* medial y el núcleo de la banda diagonal de Broca son la fuente de su ritmicidad, aunque las células hipocámpicas mantienen sus patrones rítmicos aún después de varias deafferentaciones del área septal o cuando son estudiadas en preparaciones *in vitro*, la destrucción del área septal anula la ARL del hipocampo, y quizás también de todas las demás áreas corticales. En el animal anestesiado la ARL puede también ser suprimida por la administración sistémica de antagonistas colinérgicos como la atropina y la escopolamina. Estos hallazgos permiten suponer que el marcapaso colinérgico septal es alimentado dentro de los

circuitos paralelos del hipocampo y excita las neuronas piramidales y quizá las células granulares del giro dentado. Las colaterales recurrentes de estas células piramidales activan a interneuronas inhibitorias, las que a su vez inhiben a las células piramidales de una manera periódica. Esta excitación-inhibición oscilante produce fluctuaciones rítmicas del potencial de membrana en un gran grupo de neuronas y los potenciales de membrana sumados producen el campo extracelular de la ARL (Buzsáki, 1986).

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

Resultados más recientes sugieren que las neuronas serotoninérgicas del núcleo rafe medial están involucradas críticamente en el control de la actividad eléctrica hipocámpica. La activación de estas neuronas serotoninérgicas desincroniza la ARL hipocámpica mientras que su inhibición produce el ritmo theta hipocámpico (Vertes y cols., 1994). Asimismo, el rafe medial contiene una población de neuronas GABAérgicas que hacen sinapsis sobre sus neuronas serotoninérgicas. La inyección de muscimol, un agonista GABA-A produce, aún en dosis bajas, ritmo theta con latencia larga y sin efectos posteriores dentro del hipocampo y en áreas adyacentes. Estos resultados indican que las inyecciones de muscimol en el rafe medial producen ritmo theta al inhibir la

actividad de las neuronas serotoninérgicas. Lo cual sugiere que los sistemas GABAérgicos del rafe medial, vía su influencia sobre sus propias células serotoninérgicas, juegan un papel importante en el control del EEG hipocámpico (Kinney y cols., 1995; Staubli y Xu, 1995).

Estudios *in vitro*, donde se analizó la interacción colinérgica-GABAérgica para la producción del ritmo theta, revelaron que al aplicar bicuculina en rebanadas de la FH se facilita el efecto del carbacol (agonista colinérgico) para inducir oscilaciones tipo theta. Esta interacción puede ser antagonizada por bloqueadores muscarínicos y agonistas de GABA-A (muscimol) (Smythe y cols., 1992, Konopacki y Golebiewski, 1993).

Al aplicar carbacol en el *septum* lateral de ratas anestesiadas se produce la inducción de un ritmo theta definido en el hipocampo, pero si se aplica en el hipocampo cerca del electrodo de registro se produce una mezcla de actividad desincronizada y ondas theta, esta actividad puede ser bloqueada por un agente anti-muscarínico (la atropina), lo que demuestra que los receptores muscarínicos en el *septum* son sitios predominantes para la acción agonista-antagonista colinérgica capaz de generar o suprimir el ritmo theta hipocámpico en la rata. Esto también indica que los mecanismos colinérgicos juegan un papel importante en la iniciación y generación de este ritmo (Monmaur y cols., 1993).

La correlación de la ARL, definida como ritmo theta, con el estado conductual de la rata ha sugerido que existen dos tipos de actividad theta, las cuales tienen bases anatómo-fisiológicas distintas y con un significado funcional diferente, uno para vigilia y otro para SMOR (Monmaur y cols., 1979, Buzsáki y cols., 1983). Asimismo, se ha observado que la respuesta de la transmisión neuronal varía de acuerdo con el estado conductual del animal (Winson y Abzug, 1978, Cauller y cols., 1985). En el análisis de Fourier del EEG hipocámpico durante el SMOR y la VIG se han encontrado diferencias de potencia, frecuencia, coherencia y fase de la actividad theta en el CA1 de la rata; dónde la potencia de esta actividad es mayor durante SMOR y la fase es más amplia en SMOR que en VIG (Leung, 1984). Sin embargo, no es claro si existe alguna diferencia entre la FH derecha e izquierda, y sus características electroencefalográficas. Una primera aproximación en

este sentido es el trabajo de Chida y Toyosawa (1994), quienes analizaron la correlación de la actividad eléctrica muy cerca de la estructura dorso-ventral en ambos hipocampos. Estos autores encontraron que la distribución de las frecuencias de la actividad eléctrica en ambos hipocampos de la rata macho depende del estado conductual del animal y que ésta es diferente en cada hemisferio, así estos autores asumen que la FH en la rata tiene diferentes funciones de acuerdo con el hemisferio en que se localiza.

EL RITMO CIRCADICO DEL SUEÑO Y LA VIGILIA

Los Ritmos Circadianos y el Núcleo Supraquiasmático

La habilidad para regular las funciones rítmicamente es una adaptación filogenética a los cambios en el ambiente que acompañan la rotación de la Tierra. Los ritmos biológicos con una oscilación periódica cercana a las 24 horas se denominan ritmos circádicos o circadianos (Halberg, 1959), los cuales en condiciones de oscilación libre, es decir, en ausencia de sincronizadores como luz-oscuridad, alimentación, temperatura, etc. se exhiben con periodos no lejanos a las 24 h (Stupfel y Pavely, 1990).

Los ritmos biológicos persisten tras la exclusión de los factores exógenos (luz, temperatura, humedad, meteorología, presión barométrica, condiciones ecológicas, disponibilidad de alimentos, etc.) siendo efectuados por procesos internos (osciladores endógenos), que se valen de los primeros para sincronizarse en ciclos determinados (Borbély y cols., 1983; Skiner y García Rill, 1990). Así, en mamíferos bifásicos como el humano, el sueño y la vigilia constituyen dos etapas de una variación rítmica que ocurre en relación con el día y la noche en periodos de 24 horas.

El núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo ha sido propuesto como el marcapaso circadiano en el cerebro de mamíferos ya que presenta las siguientes propiedades funcionales: a) al destruirse se anulan varios ritmos circádicos, b) la generación de una periodicidad circadiana autónoma, y, c) la sincronización de los ritmos de diversas funciones con la alternancia de luz y

oscuridad (Ibuka y Kawamura, 1975; Moore, 1992). Se localiza en el hipotálamo anterior sobre el quiasma óptico y lateral al tercer ventrículo, recibe una vía neural directa desde la retina, el tracto retino-hipotalámico y proyecta fibras hacia los núcleos hipotalámicos paraventriculares, jugando un papel importante en la regulación del ciclo sueño-vigilia (Rusak y Zucker, 1979; Moore, 1992). Asimismo, recibe fibras provenientes del complejo nuclear del rafe, lo que afirma su participación en la regulación del sueño. En la rata, su generación es pre y posnatal, es decir, que comienza su generación en el último tercio de la gestación y se extiende hasta los 30 días de edad posnatal (Moore, 1990, 1991).

Cientos de funciones muestran una ritmicidad circadiana, incluyendo procesos intracelulares básicos, actividad enzimática, secreciones hormonales, temperatura corporal, el sueño y la vigilia y la actividad y el reposo.

Cada ritmo fisiológico tiene una relación de fase para el ciclo día-noche y para otros ritmos; una función del sistema circadiano de sincronización es mantener las relaciones de fase apropiadas de los diferentes ritmos. Sin embargo, las relaciones de fase del marcapaso circadiano se mantienen más firmemente para algunos ritmos que otros. Un ritmo firmemente acoplado, tal como el de temperatura corporal se encuentra más cercano a la actividad del marcapaso, mientras que las funciones que se acoplan más libremente al marcapaso, tal como ritmo sueño-vigilia, pueden cambiar en su relación de fase con el marcapaso (Moore, 1990).

El Ritmo de Sueño-Vigilia y la Homeostasis del Sueño.

Los estudios clínicos y de investigación en las décadas pasadas han mostrado que el sueño no es simplemente el resultado de la disminución en las funciones de los sistemas de vigilia. Más bien, es el producto de un proceso activo que requiere de interacciones apropiadas de numerosos sistemas corticales y estructuras del diencefalo y el tallo cerebral. El sueño, pues, es regulado por procesos fisiológicos que permiten mantener estable el mecanismo interno para esta función vital, es decir, mecanismos homeostáticos. El sueño de ondas lentas es considerado como un proceso

homeostático en la regulación del ciclo sueño-vigilia, ya que, en condiciones normales se presenta una cantidad constante promedio de éste, así como un aumento compensatorio tanto de su duración como de su intensidad después de una pérdida de sueño (Franken y cols., 1991). Sin embargo, en contraste con otros procesos fisiológicos que están sujetos a una regulación homeostática, la función del sueño es desconocida.

Además, el ciclo de sueño-vigilia en el humano se presenta como un ritmo fisiológico con una duración aproximada de 24 horas, es decir, circadiano, pero, este comportamiento no es un pre-requisito para la homeostasis del sueño, dado que, si se lesionan los núcleos supraquiasmáticos se pierde la distribución circádica del sueño pero no su cantidad total en 24 horas. Ambos procesos, el circádico y el homeostático son, pues, independientes. Borbély y cols., (1978, 1987, 1992), propusieron un modelo del ciclo sueño-vigilia basado en estos dos componentes: el proceso S, como un proceso homeostático y una medida de la necesidad del sueño que se incrementa exponencialmente durante la vigilia y decae exponencialmente durante el sueño. Esta disminución del proceso S está íntimamente relacionada con la cantidad de sueño de onda lenta que se presenta. Por otro lado, el proceso C, que es un proceso circádico con un ritmo sinusoidal que incrementa la propensión al sueño durante la noche y la disminuye durante el día. Ambos procesos, siendo independientes entre sí, se encuentran fuertemente entrelazados, de tal modo que el proceso C ayuda a mantener el sueño mientras que el proceso S declina durante la noche y mantiene la vigilia mientras que el S aumenta durante el día.

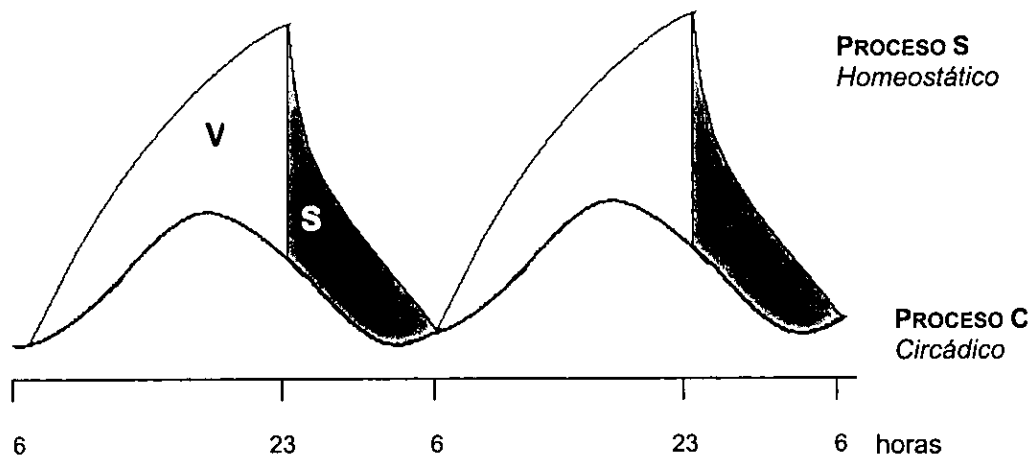


Fig. 4. Modelo del doble proceso para la regulación del sueño y la vigilia en humanos propuesto por Borbély y cols. (1978,1987). El proceso C mantiene una cadencia cíclica de aproximadamente 24 horas, mientras el proceso S declina durante la noche y aumenta durante el día. V=vigilia, S= sueño.

REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CEREBRAL Y DEL SUEÑO.

Integración de la actividad cerebral.

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

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

A la formación reticular pontina, se le han atribuido, entre otras, las siguientes funciones: a) disparar el SMOR, b) controlar el despertar y la atención, c) establecer el nivel del tono muscular,

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

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

Tabla I
Actividad eléctrica de algunas estructuras involucradas en la regulación del
ciclo sueño-vigilia
Frecuencia de disparo y excitabilidad neuronal

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

VIG=Vigilia, SOL= Sueño de Ondas Lentas, SMOR= Sueño con Movimientos Oculares Rápidos.
 N.rafe= Núcleo del rafe, N. TLD=Núcleo tegmental latero-dorsal, N.TPP=Núcleos pedúnculo pontinos.
 5-HT= serotonina, NA= noradrenalina, ACh Acetilcolina ↑= excitabilidad neuronal alta ↑= excitabilidad neuronal
 baja, ---=sin actividad neuronal.

(Modificado de Cintra y Durán, 1997)

Estados de vigilancia en el ciclo de Sueño y Vigilia.

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

Vigilia (VIG)

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

La formación reticular proyecta fibras noradrenérgicas y serotoninérgicas hacia el hipotálamo, sub-tálamo y cerebro basal, y directamente a la corteza y al hipocampo (Jones y Yang, 1985). El hipotálamo posterior, en tanto, envía fibras histaminérgicas difusas a la corteza y al tálamo. Estas conexiones son consideradas como parte del sistema activador de la vigilia dado que su lesión produce somnolencia continua (Nauta, 1946). En 1972, Jouvet propuso la teoría serotoninérgica del sueño, en la que los núcleos del rafe serían responsables de la generación del sueño lento. Pero, en la actualidad, se ha demostrado que su destrucción produce insomnio y la estimulación de estos núcleos, da lugar a la vigilia (Houdouin y cols., 1991). Estos hallazgos sugieren entonces que esta estructura favorece el sueño al inhibir el estado de vigilia (Vertes, 1990).

Sueño de ondas lentas (SOL)

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

Durante el SOL, las neuronas de la sustancia innominada y del globo pálido, aumentan su frecuencia de disparo. Nauta (1946), mostró que las lesiones de la región anterior del hipotálamo producen insomnio, en tanto que la estimulación eléctrica sobre el hipotálamo lateral, el núcleo antero-ventral del tálamo y el área preóptica producen sincronización cortical y conducta de sueño (Steriade y cols., 1987). Las áreas preóptica media, banda diagonal de Broca, la preóptica lateral magnocelular y la sustancia innominada subpálida constituyen una región compleja que contiene vías y elementos neuronales en donde se integran procesos hormonales, metabólicos y conductuales. Estas áreas, que ejercen su control sobre el mantenimiento y consolidación del SOL, al ser lesionadas producen hiposomnias, pérdida del SOL profundo, disminución de la frecuencia de aparición del SOL y del SMOR, en tanto que se aumenta la duración de la VIG (Szymusiak y McGinty, 1989).

Sueño con Movimientos Oculares Rápidos (SMOR)

Se ha propuesto que el SMOR es el resultado de la activación de sustratos neuronales localizados en el tallo cerebral (Jouvet, 1972). En la preparación de cerebro aislado se mantienen la atonía muscular, los movimientos oculares rápidos, las ondas PGO y las sacudidas musculares. Al realizar un corte transversal al nivel de la protuberancia se pierden los componentes fásicos y tónicos del SMOR (Jouvet, 1988). Además de estos fenómenos, el registro del SMOR se caracteriza por la desincronización de la actividad cortical y la aparición del ritmo theta hipocámpico (Faradji y cols., 1979). En 1985, Sakai propuso que algunas estructuras del tallo cerebral están vinculadas con los eventos fásicos y tónicos del SMOR. También, se ha sugerido que las espigas PGO se originan en el área X del tegmento pontino dorsal (núcleo colinérgico mesopontino) (Sakai, 1985), así como en las neuronas TLD y TPP de la formación reticular pontina, debido a que lesiones en dichas neuronas anulan su aparición (McCarley y cols., 1978, Jones, 1991). Las espigas PGO, se propagan desde la región pontina al cuerpo geniculado lateral y a la corteza occipital, donde se reconocen con facilidad (Sakai, 1980, Jones, 1991).

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

La regulación del SMOR implica la activación de los mecanismos colinérgicos/colinoceptivos de varias regiones de la formación reticular pontina. Dentro de éstas se incluyen el área reticular tegmental dorsal, las áreas reticulares laterales y porciones de la médula y la formación reticular mesencefálica (McCarley, 1990). La desincronización cortical implica un alto grado de actividad de

las neuronas centrales y de los sistemas motores, sin embargo, el SMOR (un estado de desincronización cortical), así como a una inhibición de la actividad tálamo-cortical (Llinas y Paré, 1991) y presenta paradójicamente atonía muscular acoplada a gran actividad neuronal (Steriade y McCarley, 1990). Se sabe que esta atonía de los músculos anti-gravitatorios es causada por una hiperpolarización de las motoneuronas de la médula espinal (Morales y Chase 1978). Las lesiones provocadas sobre el *Locus coeruleus* medial y regiones adyacentes de la formación reticular pontina anulan la atonía muscular (Morrison, 1983) dañando el origen o curso de las neuronas que contribuyen a la vía tegmento-reticular, descrita por Sakai y cols., (1979) como un mediador de la atonía presente durante el SMOR. En este estado, las frecuencias de disparo de las neuronas colinérgicas del tallo cerebral (núcleos TLD y TPP), así como tálamo-corticales se encuentran muy elevadas. Los núcleos del rafe (con las denominadas células REM-off) envían proyecciones inhibitorias a los núcleos colinérgicos pontinos TLD y TPP, impidiendo que el organismo entre a la fase de SMOR, pero cuando los núcleos del rafe dejan de disparar, se pierde la inhibición y esto permite que se activen los núcleos colinérgicos dando lugar a la generación de SMOR (Shiromani y cols., 1992). Los sistemas colinérgicos del tallo cerebral producen dos efectos principales sobre el tálamo: a) una excitación directa de las células tálamo-corticales y b) una desinhibición de las neuronas tálamo-corticales, producida por la inhibición de neuronas GABAérgicas reticulo-talámicas, y se sugiere que estos sistemas inducen la activación cortical durante el SMOR (Curró Dossi y cols., 1991).

TÉCNICAS DE ANÁLISIS DEL CICLO SUEÑO VIGILIA

Análisis Visual

Los estados de VIG, SOL y SMOR pueden ser identificados mediante la inspección visual con base a tres indicadores principales: la amplitud del voltaje del ECoG, la frecuencia de los movimientos oculares rápidos y el registro del electromiograma (EMG) de la actividad de los músculos anti-gravitatorios; además, las espigas PGO pueden considerarse otro indicador

importante en algunas especies, así como la presencia del ritmo theta hipocámpico, el cual se utiliza comúnmente como un indicador de SMOR.

La vigilia alerta se caracteriza por una actividad eléctrica cortical rápida, en un rango de 11.5 a 30 Hz, con un voltaje medio que varía de 30 a 50 μV o más. La vigilia se presenta como un ritmo del ECoG rápido y de bajo voltaje en donde, el animal se encuentra despierto mostrando una diversidad de conductas y actividad.

El SOL está caracterizado por husos de sueño de entre 10 y 13 ciclos por segundo, asociados a actividad lenta (0.25-3.5 Hz) de alto voltaje de hasta 100 y 200 μV (ritmo delta). En la rata y cualquier otra especie de mamífero las características conductuales más sobresalientes del SOL son la ausencia de movimientos corporales, ojos cerrados y en algunos casos, la adopción de alguna postura especial. En el caso de la rata, ésta se mantiene siempre su vientre y sus 4 patas flexionadas con la cabeza inclinada sobre el tórax. Además se reducen la frecuencia cardíaca, la presión arterial y la temperatura corporal. La respiración se vuelve más lenta y se regulariza.

El ECoG del SMOR se caracteriza por la presencia de una actividad eléctrica rápida muy similar a la de vigilia, conocida como ritmo theta (4.0-12.0 Hz), uniforme y con un voltaje entre 50 y 150 μV y puede ser registrado tanto en la corteza como en la formación hipocámpica. Está marcado por la disminución del tono de los músculos antigravitatorios, la presencia de movimientos oculares, la frecuencia cardíaca y la presión arterial se vuelven irregulares (ver Fig. 5).

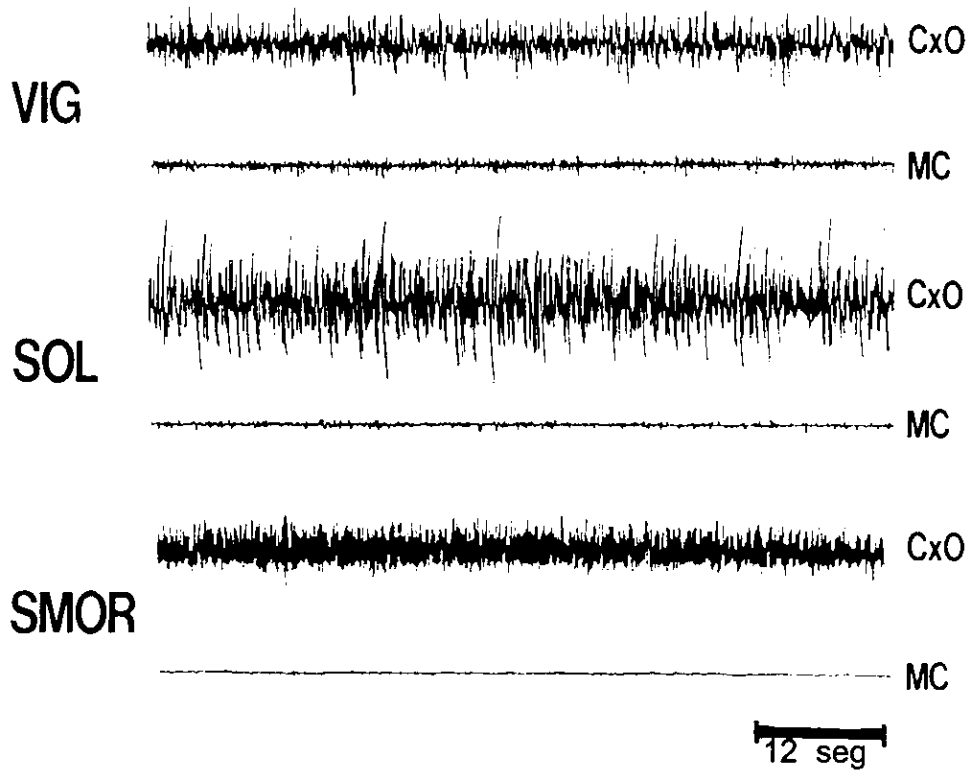


Fig. 5. Registros electrocorticográficos (CxO) y electromiográficos (MC) de los tres estados de vigilancia, vigilia (VIG), sueño de ondas lentas (SOL) y sueño con movimientos oculares rápidos (SMOR) en la rata. El electrocorticograma se registró en la corteza occipital izquierda y el electromiograma en los músculos dorsales del cuello.

Análisis Espectral

Actualmente se han desarrollado técnicas digitales para el análisis de las señales bioeléctricas, las cuales permiten obtener los espectros de amplitudes, fases y frecuencias. Una de las técnicas más utilizadas es el análisis de la actividad eléctrica cerebral empleando la Transformada Rápida de Fourier (TRF), que permite separar una señal EEG o ECoG en sus componentes de frecuencia.

La TRF toma en consideración que la actividad cerebral es un patrón irregular de señales eléctricas que varían en una escala continua, sin separar el comportamiento en estados discretos, lo cual supone importantes ventajas durante los registros continuos de la actividad eléctrica cerebral (Grasing y Szeto, 1992). El análisis de Fourier (con el cual se obtiene la potencia espectral) es un parámetro más sensible que la lectura convencional de los estados de vigilia ya que realiza la separación de cada uno de los componentes de frecuencia que forman parte de la señal eléctrica cerebral (no es prerequisite la evaluación de los estados de vigilia) (Schandry, 1991) (ver Fig. 6a).

Es importante hacer notar que cada uno de los estados de vigilia presenta una suma de frecuencias tanto lentas como rápidas, y puede diferenciarse de los otros por las bandas de frecuencias características de cada estado. Así, la vigilia presenta mayor cantidad de frecuencias rápidas que de los componentes lentos; así como frecuencias ubicadas dentro de la banda de frecuencias theta, el SOL se diferencia de los otros estados de vigilia porque en éste predominan las frecuencias lentas y en SMOR predominan las frecuencias entre 4-12 Hz, de la denominada banda theta además de un componente de actividad lenta (ver Fig. 6b).

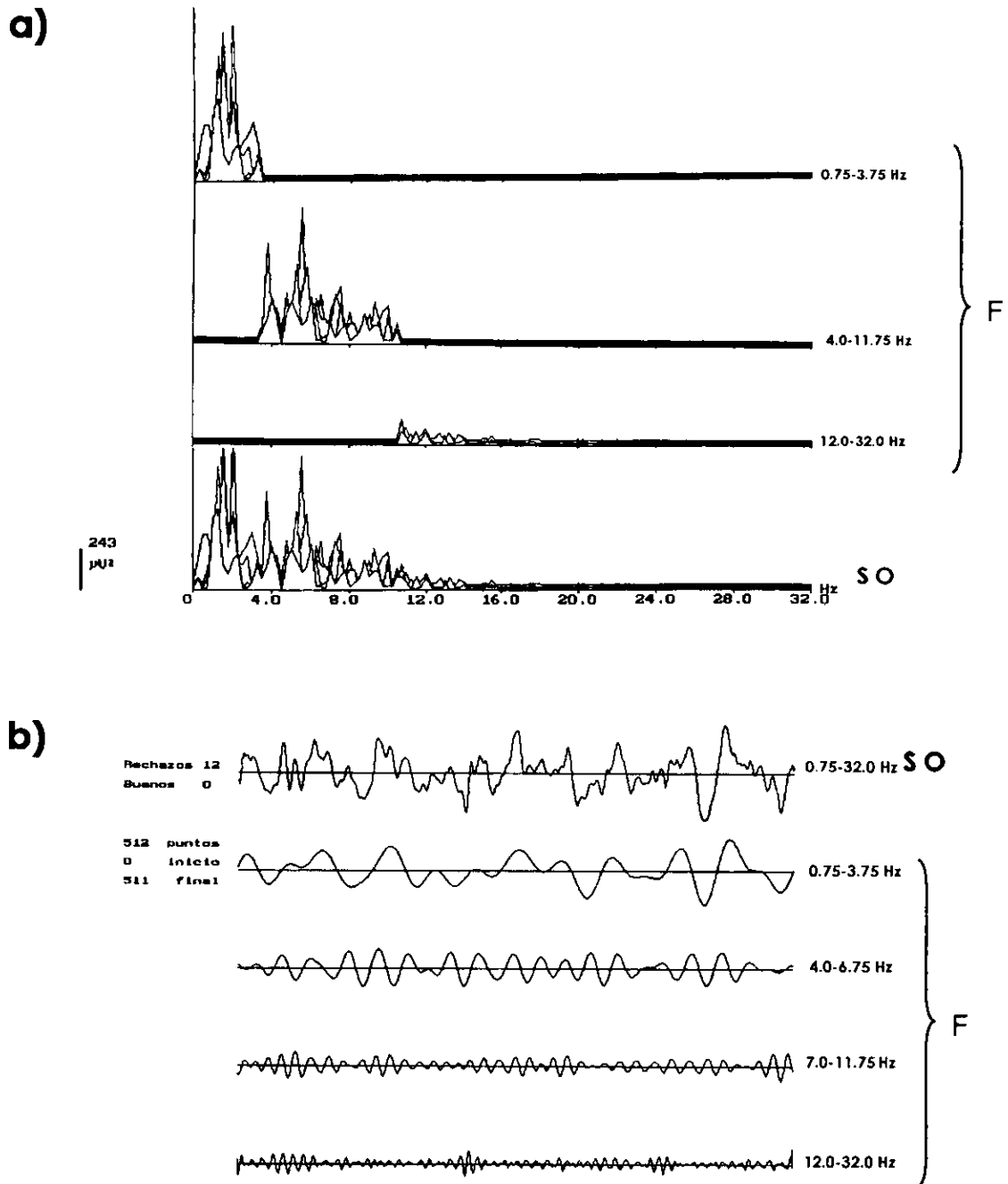


Fig. 6. Espectros de frecuencia obtenidos con la transformada rápida de Fourier. a) La señal original (S O) se disocia en sus diferentes componentes de frecuencia mediante filtros digitales (F). b) Una señal bioeléctrica está compuesta por todo el espectro de frecuencias, la suma de todas ellas son la S O. El análisis espectral permite conocer y determinar cuáles frecuencias prevalecen o cómo se afectan en determinadas manipulaciones experimentales (Gráficos obtenidos por P. Durán).

Correlación y Coherencia electroencefalográficas.

La similitud entre dos señales de actividad eléctrica espontánea (EEG, ECoG) así como las relaciones funcionales entre dos regiones cerebrales pueden ser estudiadas por medio de análisis de coherencia (Coh) o correlación (r) entre las señales generadas en dos estructuras o regiones cerebrales diferentes, ya que estos análisis consideran la relación de fase existente entre las señales eléctricas de las regiones que se comparan (Shaw y cols., 1977; Shaw, 1984).

Es muy común que se utilicen los términos de correlación y coherencia como sinónimos, sin embargo, existen diferencias importantes en los procedimientos que se siguen para su cálculo y en los resultados que se obtienen de ambos. La Coh se calcula a partir del espectro cruzado de potencia y considera tanto las diferencias como las similitudes entre las frecuencias y la amplitud (o voltaje), relacionadas con la estabilidad de la señal entre dos canales o fuentes, así que si éstas se modifican al mismo tiempo, pero siguen siendo iguales entre sí, entonces no hay cambio en la Coh, si por otro lado, al modificarse las señales se produce un cambio en la relación de fase o de amplitud entre ambas, el índice de Coh indica un cambio en el comportamiento de las señales estudiadas. La Coh no proporciona información directa de la verdadera relación de fase entre dos señales, sino únicamente sobre la estabilidad de esta relación con respecto a la potencia asimétrica y la relación de fase.

En tanto, la correlación considera tanto la relación de fase como la polaridad entre las dos señales que se están analizando, sin tomar en cuenta la amplitud o voltaje de la señal (basta con que ésta no sea cero) y permite determinar el grado de semejanza entre dos señales eléctricas durante un periodo de tiempo (semejanza morfológica) (Guevara, 1995).

Los resultados que se obtienen al aplicar ambos análisis son muy similares, es decir, el grado de comparación es muy alto, al menos, así se ha observado bajo condiciones fisiológicas normales. Son considerados como equivalentes ya que ambos evalúan el grado de similitud entre dos señales (Guevara y Corsi-Cabrera, 1996).

Aplicaciones de ambos tipos de análisis:

La mayoría de los autores emplean los análisis de la Coh del EEG como una medida del grado en el cual las señales (en una banda de frecuencias dada) medidas en dos distintas localizaciones del cráneo están linealmente relacionadas unas con otras, donde una señal puede estar retrasada con respecto a la otra. Una Coh alta (cerca de 1), indica que las dos regiones están linealmente asociadas a través de conexiones anatómicas ya sean directas o indirectas, mientras una baja Coh (cerca de 0) indica que las dos regiones no están linealmente relacionadas (Fletcher y cols., 1997). Este análisis se ha empleado para explicar las diferencias en conectividad entre los hemisferios derecho e izquierdo y las cortezas frontal y occipital, así se ha demostrado, en el humano, una Coh del EEG relativamente más alta entre las derivaciones frontales que en las posteriores al comparar el hemisferio derecho contra el izquierdo y las diferentes derivaciones inter e intrahemisféricas (Thatcher, 1995). Esta información se ha considerado como una evidencia de las conexiones funcionales y estructurales de la red neuronal subyacente tanto en la corteza como en estructuras subcorticales, involucrando tanto conexiones axonales cortas como a larga distancia (Thatcher y cols., 1986). Por otro lado, se ha empleado para determinar el grado de deterioro que sufre la actividad eléctrica cerebral debido a traumatismos o lesiones (Thatcher y cols., 1989; Harmony, y cols., 1994), epilepsia (Takigawa, y cols., 1996), enfermedades neurodegenerativas (Cook y Leuchter, 1996), alteraciones en los índices cognoscitivos producidas por diversas enfermedades, como la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH, causante del SIDA) (Fletcher y cols., 1997).

Los análisis de r , por su parte, se han empleado para estudiar los mecanismos de generación de la actividad eléctrica cerebral, analizando las relaciones entre las unidades de descarga y la propia actividad eléctrica, así como entender las relaciones existentes entre la corteza y estructuras subcorticales. El análisis de r ha sido de gran utilidad cuando se requiere conocer el grado de diferenciación funcional al comparar la actividad eléctrica de dos regiones, una r alta permite inferir una organización funcional más homogénea entre las dos regiones, mientras

que una r menor indicaría una mayor diferenciación funcional entre ambas regiones (Shaw y cols., 1977; Shaw, 1984). Así, este análisis ha permitido demostrar que existe dimorfismo sexual en la organización cortical, en el macho se ha observado una mayor especialización hemisférica, en tanto en la hembra es evidente una representación bilateral, lo que indica una menor diferenciación funcional interhemisférica en este género (Corsi-Cabrera y cols., 1989; Juárez y Corsi-Cabrera, 1995). Asimismo, se ha observado que la r inter e intrahemisférica varían de acuerdo al estado de vigilancia durante el ciclo sueño vigilia, mostrando una diferenciación cortical funcional (Guevara y cols., 1995; Corsi-Cabrera y cols., 1996).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años ha aumentado el interés por investigar la organización funcional de la corteza cerebral, en particular las relaciones funcionales entre diferentes áreas corticales, ya sean intra o interhemisféricas y sus variaciones de un estado a otro, partiendo de la base de que la actividad electroencefalográfica refleja los procesos neurofisiológicos subyacentes y se considera un índice de integridad funcional del Sistema Nervioso. Asimismo, se sabe que existen factores nocivos, como la malnutrición hipoproteínica, que pueden alterar de manera permanente o transitoria el desarrollo pre y posnatal del sistema nervioso central, afectando su anatomía, bioquímica y fisiología. De estos estudios, se desprende en conjunto que los procesos que se llevan al cabo durante el desarrollo pre y posnatal del SNC determinan la función de los circuitos neurales. Los factores externos nocivos (como la malnutrición, drogas, alcohol, etc.), instalados durante los periodos críticos de desarrollo, provocan alteraciones en la manifestación fisiológica de la actividad eléctrica cortical en el ciclo de sueño-vigilia.

En el presente proyecto se pretende, utilizando ratas Sprague-Dawley de 30 días de edad, evaluar el daño producido por la malnutrición en el hipocampo, estructura cerebral involucrada en los procesos de memoria y aprendizaje cuyo circuito sináptico ha sido bien estudiado (Cohen y Eichembaum, 1993, Amaral y Witter, 1989). Además, está implicada en la generación de la actividad rítmica lenta o ritmo theta, un componente importante de la actividad cerebral en los estados de vigilancia. Por otro lado, se pretende valorar el efecto nocivo que produce la malnutrición hipoproteínica (6% de caseína) instalada durante los periodos de desarrollo pre y posnatal, y prenatal únicamente, sobre la correlación intra- e interhemisférica del ECoG de la corteza y la actividad eléctrica del hipocampo, lo cual nos permitirá conocer mejor las consecuencias funcionales que produce este tipo de malnutrición sobre el desarrollo del sistema nervioso central.

HIPÓTESIS

Se sabe que la malnutrición perinatal produce alteraciones irreversibles sobre el ciclo de sueño-vigilia tanto en sus mecanismos de recuperación homeostática como en su ritmicidad circádica, y en los parámetros espectrales de la actividad eléctrica de los diferentes estados de vigilancia y sus componentes de frecuencia en la rata en desarrollo. Dado que estos son parámetros de integridad funcional, se verán afectados los índices de correlación interhemisférica e intrahemisférica tanto del hipocampo como de la corteza cerebral en la rata juvenil de 30 días de edad sometida a una dieta hipoproteínica durante su desarrollo pre y posnatal (malnutrición crónica) y sólo prenatal (malnutrición prenatal).

OBJETIVO GENERAL

Determinar si los efectos provocados por dos tipos de malnutrición: prenatal y crónica en la rata de 30 días de edad, alteran los índices de correlación interhemisférica e intrahemisférica tanto del hipocampo como de la neocorteza.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Empleando ratas juveniles Sprague-Dawley de 30 días de edad:

1) Establecer las semejanzas y diferencias entre ratas normales (Co), malnutridas crónicas (MCr) y sólo durante el periodo prenatal (MPr) mediante un análisis de correlación interhemisférica de:

- a) La actividad rítmica lenta del hipocampo
 - b) La actividad eléctrica de la corteza cerebral
- Asimismo, determinar su ritmicidad circádica.

2) Analizar la actividad eléctrica hipocámpica y la cortical y obtener los componentes principales de su frecuencia.

3) En un análisis de correlación intrahemisférica, determinar si existen alteraciones en el acoplamiento temporal de las señales eléctricas del hipocampo y la corteza.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si los efectos provocados por dos tipos de malnutrición: prenatal y crónica en la rata de 30 días de edad, alteran los índices de correlación interhemisférica e intrahemisférica tanto del hipocampo como de la neocorteza.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Empleando ratas juveniles Sprague-Dawley de 30 días de edad:

1) Establecer las semejanzas y diferencias entre ratas normales (Co), malnutridas crónicas (MCr) y sólo durante el periodo prenatal (MPr) mediante un análisis de correlación interhemisférica de:

- a) La actividad rítmica lenta del hipocampo
 - b) La actividad eléctrica de la corteza cerebral
- Asimismo, determinar su ritmicidad circádica.

2) Analizar la actividad eléctrica hipocámpica y la cortical y obtener los componentes principales de su frecuencia.

3) En un análisis de correlación intrahemisférica, determinar si existen alteraciones en el acoplamiento temporal de las señales eléctricas del hipocampo y la corteza.

MATERIAL Y MÉTODO

ANIMALES

Se formaron 3 grupos experimentales cada grupo constituido por 10 machos diestros de 30 días de edad: a) Control (Co), b) malnutrido prenatal (MPr) y c) malnutrido crónico (MCr).

Para determinar la lateralidad en las ratas neonatas se calificaron los movimientos laterales iniciales de la cola y la cabeza (el eje cuerpo-cola o el ángulo de la cabeza mayor de 30 grados) colocando a las ratas en una superficie plana, junto a una regla (Afonso y cols., 1993). Este procedimiento se realizó varias veces. Los neonatos que mostraron los movimientos de la cola preferentemente a la izquierda, y los de la cabeza hacia el lado derecho, fueron considerados diestros (90% de la población analizada). En animales más grandes, se suspendieron de la cola y se identificó el lado hacia el cual se inclinaba el giro de su cuerpo. Se utilizaron animales diestros (lateralidad derecha), porque la lateralidad pudiera influir en los resultados del presente estudio debido a la diferenciación funcional hemisférica.

Método de malnutrición

Para obtener los grupos del estudio se emplearon 2 grupos de ratas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Sprague-Dawley hembras (250-300gr) que fueron mantenidas *ad libitum*, uno en una dieta de 6% de caseína (malnutridas), y el otro en una dieta de 25% de caseína (controles) durante 5 semanas previas al apareamiento, la gestación y la lactancia. Es importante mantener este periodo con el propósito de restablecer el equilibrio metabólico impuesto por la dieta hipoproteínica antes de la gestación, para asegurar que el daño que está sufriendo el feto sea específico, dado que la madre no puede amortiguar totalmente los efectos de la malnutrición. Después del nacimiento, se formaron los tres grupos empleados en el presente estudio: las crías de las madres malnutridas (6%) fueron divididas en 2 grupos, unas continuaron con sus madres malnutridas (modelo MCr) y

otro grupo fue transferido a una madre nodriza normal y alimentadas con la dieta normal después del destete (modelo MPr). El grupo control fue obtenido de madres normales que mantuvieron a sus crías hasta el destete. El destete se llevó a cabo el día 21 posnatal, y las ratas de cada grupo mantuvieron la dieta durante y después del experimento (ver diagrama1).

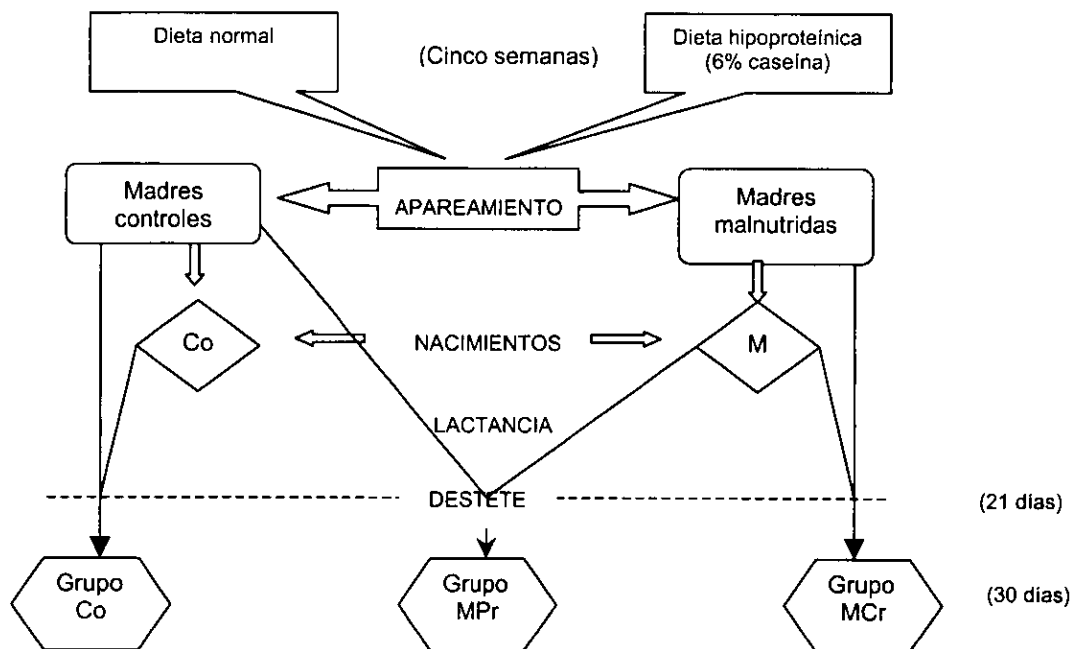


Diagrama 1. Se muestra el procedimiento de malnutrición y la obtención de los grupos Co=controles, MPr= malnutridos prenatalmente, MCr=malnutridos crónicos. M=malnutridos, n= 8 crías por camada.

Dietas

La malnutrición hipoproteínica se realizó de acuerdo al modelo empleado previamente por Morgane y cols., (1978) el cual consiste en dietas con un contenido proteínico variable, dieta control de caseína, dieta experimental 6% de caseína (ver Tabla II). Las dietas de caseína son adicionadas con l-metionina (0.4%) debido a que carecen de este aminoácido esencial. Tanto el fosfato de calcio monobásico(0.6%) como el carbonato de zinc (0.001) fueron adicionados a la mezcla de sales de esta dieta para mantener estos minerales en los niveles encontrados en otras

dietas. Los grupos Co y MPr empleados en este experimento fueron alimentados con una dieta básica comercial de caseína (LabDiet® Purina Mills, Inc.) (ver Tabla II).

TABLA II
COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS DIETAS

COMPONENTES	DIETAS	
	6% caseína *	Comercial PMI
Proteína %	5.3	23.4
Grasa %	15.0	10
Carbohidratos %	68.9	52.4
Mezcla de sales %	4.0	6.9
Mezcla de vitaminas %	1.0	2
Agua %	1.2	
Elemento no nutritivo %	4.2	5.3
Colorante %	0.33	----
Energía (kcal/g)	4.3	4.0

*Teklad WI, USA

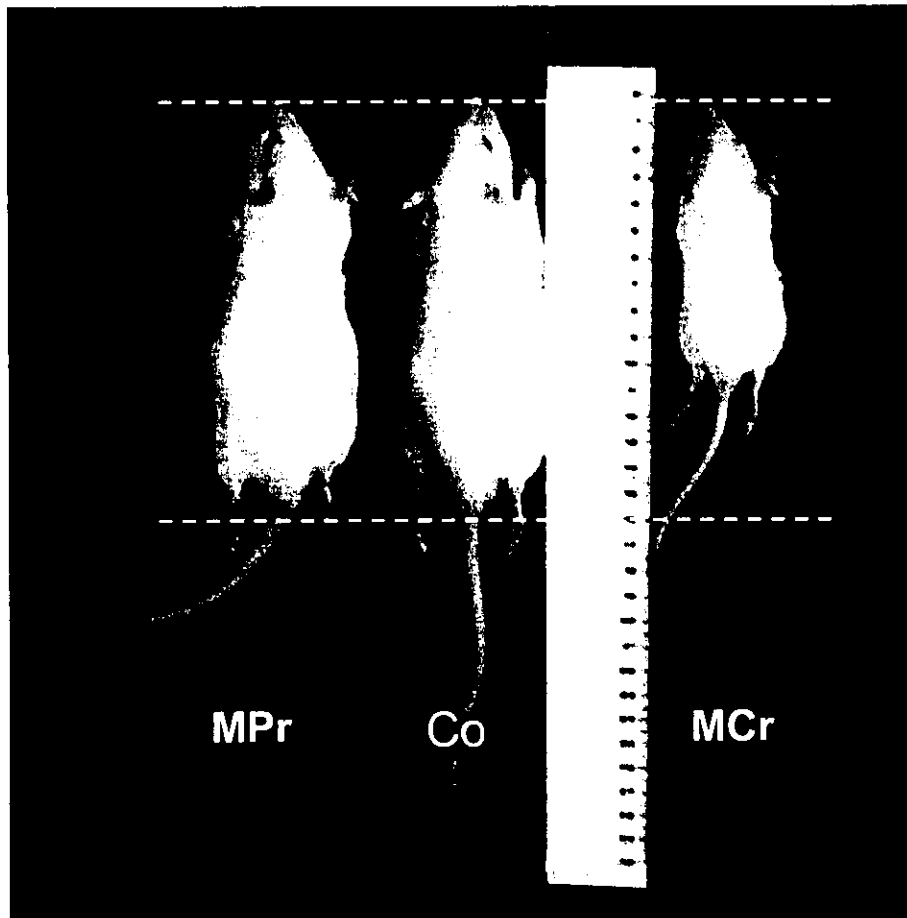


Fig. 7. Ejemplares de *Rattus norvegicus* (cepa Sprague-Dawley) de 30 días de edad uno de cada uno de los grupos experimentales. Nótese la reducción en la talla corporal en el MCr, mientras el MPr y el Co no presentan diferencias aparentes. Co= control, MPr= malnutrido durante la etapa prenatal y MCr= malnutrido crónico (pre y posnatalmente).

PROCEDIMIENTO DE REGISTRO

Implante de los Electroodos

Para registrar la actividad eléctrica de la FH y de la corteza cerebral, con la cual se evaluaron los estados de vigilancia: VIG, SOL y SMOR, se implantaron en cada rata, mediante la técnica estereotáxica: 1) electrodos de acero inoxidable en las cortezas occipitales izquierda y derecha (coordenadas: anterior 0.0 mm, lateral 3.0 mm, vertical -1.0 mm), 2) electrodos monopolares de acero inoxidable en el campo CA1 de los hipocampos derecho e izquierdo (coordenadas: anterior 2.3 mm, lateral 2.2 mm, vertical -2.7 mm) (Fig. 10 a), 3) electrodos bipolares flexibles del mismo material en los músculos dorsales del cuello y un electrodo en el cerebelo como tierra y referencia. Todos los electrodos fueron soldados a un dispositivo (conector) Amphenol fijado al cráneo del animal con acrílico dental. Se realizó el implante de electrodos en ratas machos a los 23 días de edad, esto es, 7 días antes de iniciar los registros electrocorticográficos (ECoG) y la actividad eléctrica del hipocampo, para permitir su recuperación de la cirugía. Las coordenadas citadas fueron obtenidas con ayuda de los atlas de Sherwood y Timiras (1970) y Paxinos y Watson (1983). Debido a que estos atlas manejan edades diferentes a la de 30 días, fue necesario realizar ajustes y correcciones, así como la verificación de la posición de los electrodos en el CA1 de la formación hipocámpica por histología convencional (tinción de Nissl) (ver Fig. 10b).

DETERMINACIÓN DE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA

Para definir los estados de vigilancia, VIG, SOL y SMOR mediante la inspección de las señales eléctricas, una vez convertidas de analógicas a digitales y utilizando la TRF, se han determinado para la rata, tres bandas características considerando la división tradicional (utilizada en la inspección visual en papel) de la actividad eléctrica cerebral:

- a) 0.75-3.75 Hz denominada actividad DELTA
- b) 4-11.75 Hz designada actividad THETA, la cual se puede dividir en sus dos componentes
 - i) 4-6.75 Hz ritmo theta lento
 - ii) 7-11.75 Hz ritmo theta rápido, y
- c) 12-25 Hz nombrada actividad rápida

Para determinar cada uno de los estados de vigilancia se emplearon los siguientes criterios: en general, para la actividad delta, las frecuencias corticales predominantes durante el sueño de ondas lentas (sincronización cortical), este estado se calificó de manera visual y posteriormente se realizó un análisis de frecuencias para determinar cuales eran las predominantes. Este mismo procedimiento fue realizado con cada uno de los estados de vigilancia y el espectro de frecuencias que lo conforma (Borbély y cols., 1984; Bronzino y cols., 1987; Durán, 1995).

Para el ritmo theta, además, se utilizó el registro hipocámpico ya que algunos estados conductuales del animal como son la vigilia atenta y algunos procesos de aprendizaje y memoria determinan que este ritmo presente diferentes frecuencias, todas ellas incluidas en la denominada banda theta (4.0-12.0 Hz) (observaciones experimentales en el grupo de Cintra y cols.). Estas características también han sido reportadas en la literatura en donde muchos autores, entre ellos Buzsáki y cols., (1979, 1986), hacen una diferenciación entre un ritmo theta de vigilia y un ritmo theta de SMOR (ver Fig. 8).

Condiciones para el registro ECoG

Tanto en el cuarto de bioterio como en el de registro, se empleó un ciclo alternante de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (LO 12:12) con luz de 8:00-20:00 h y una temperatura ambiente de 22 a 24°C. El agua y el alimento se proporcionaron a libre demanda.

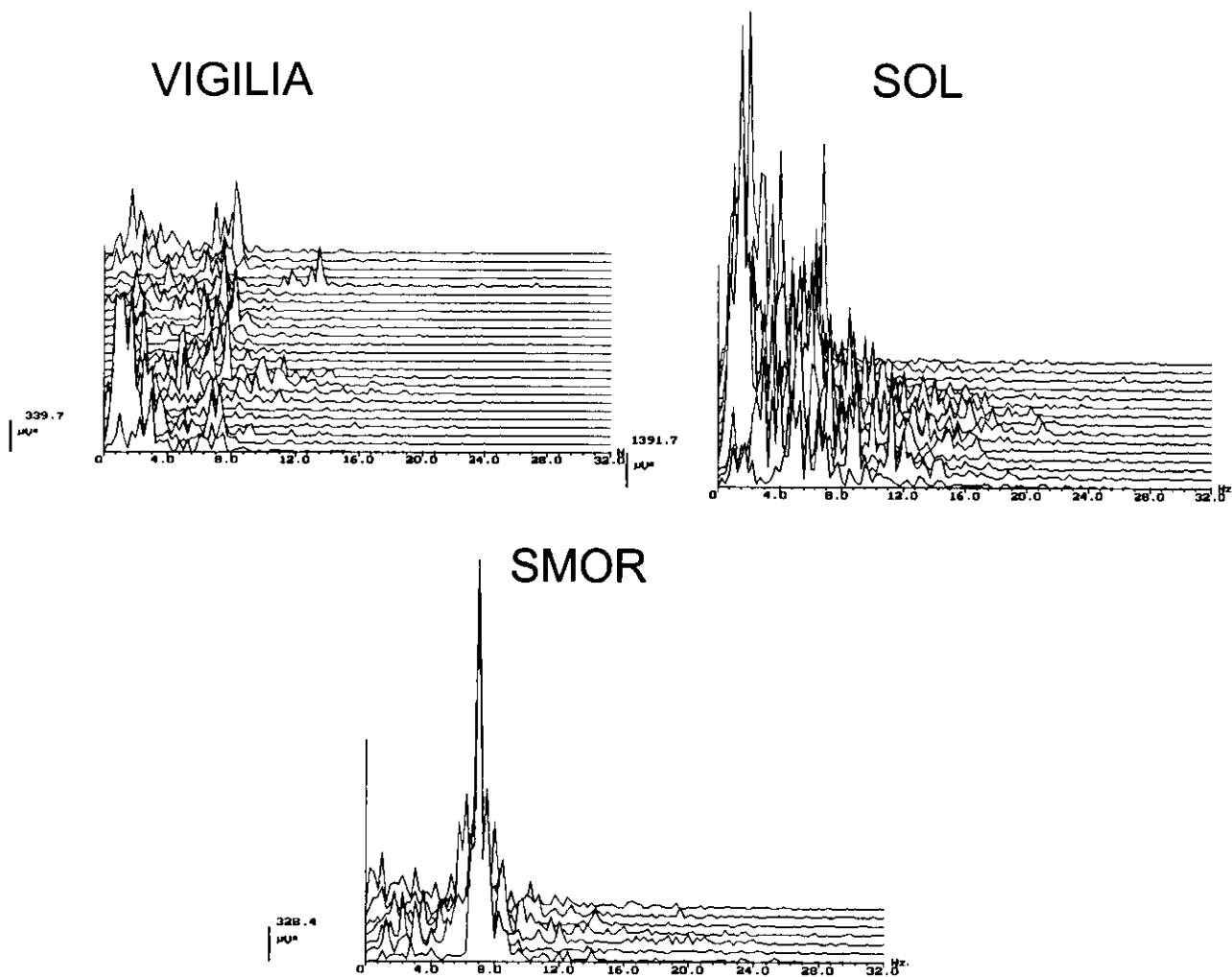


Fig. 8. Espectros de potencia de la actividad eléctrica cerebral de la rata de 30 días de edad. Se presentan los tres estados Vigilia, SOL y SMOR. Los espectros fueron obtenidos mediante la TRF en el rango de frecuencias de 0.25-32.0 Hz durante 2 minutos (30 segmentos de 4 segundos cada uno).

Veinticuatro horas previas al inicio del experimento (día 29 de edad), los animales se colocaron en una cámara sonoamortiguada de 38X38X114 cm, la cual estuvo iluminada por una lámpara fluorescente blanca, cada rata se unió al conector de los cables de registro para permitir que se adaptara a las condiciones de registro en el interior de la cámara. Los cables fueron unidos a un dispositivo especial que permite libremente su giro ("slip ring" Airflyte de 9 terminales).

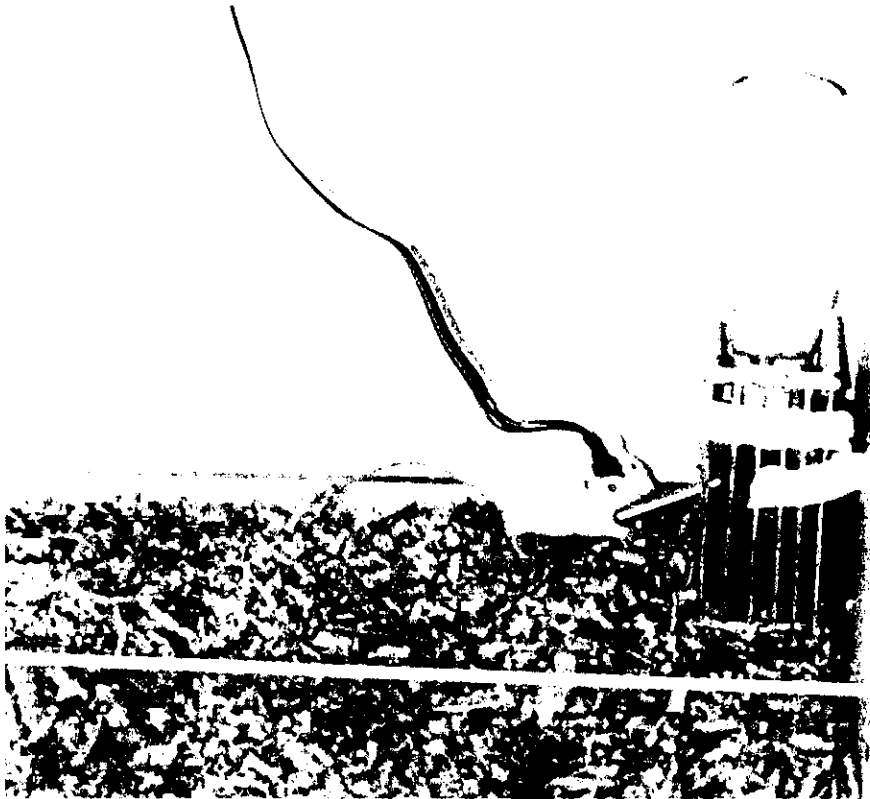


Fig. 9. Fotografía dónde se muestran las condiciones de registro en las jaulas faradizadas y sonoamortiguadas. El agua y el alimento se proporcionaron a libre demanda, en un ciclo de luz- oscuridad 12:12.

Se obtuvieron registros de 24 h de duración de la actividad eléctrica cortical e hipocámpica y EMGs en ratas de 30 días de edad en un polígrafo Grass Modelo 7D de 8 canales. Para el presente experimento, se consideraron los registros capturados en un periodo de 2 horas comprendido entre las 10:00 y las 12:00 horas de la fase de luz de los animales.

ANÁLISIS ESPECTRAL

Simultáneamente al registro poligráfico las señales fueron capturadas en una computadora PC compatible mediante un convertidor A/D, aplicando una rutina de software para la captura (CAPTUSEN) y procesamiento de las señales. Las capturas de las señales eléctricas cerebrales se realizaron con una frecuencia de muestreo de 128 Hz, tomándose 21,000 segmentos de 512 puntos, equivalentes a 4 segundos cada uno. Estos datos fueron procesados en un filtro digital para obtener los espectros de potencias absolutas y relativas, mediante una rutina que emplea la Transformada Rápida de Fourier para el análisis espectral del ECoG. De los registros obtenidos se tomaron señales capturadas entre las 10:00 a.m. y las 12:00 p.m. para calificar los estados de vigilancia en la computadora. Los segmentos escogidos para cada estado estuvieron libres de ruido considerando sus características electrográficas de amplitud y frecuencia (ver Fig. 8). Así mismo, por animal registrado se consideraron un mínimo de 300 segmentos de 4 segundos por estado de vigilancia. Posteriormente, se analizaron los índices de correlación intra e interhemisférica del hipocampo y la corteza, así como se obtuvieron los espectros de las potencias relativas y absolutas por cada Hertz en un rango de 1-32 Hz. Posteriormente, mediante el uso de una hoja de cálculo (Excel) fueron graficadas las potencias relativas para los espectros de frecuencias de la corteza y la actividad eléctrica del hipocampo en los grupos Co, MCr y MPr.

El análisis del espectro de frecuencias de las señales del ECoG se realizó aplicando rutinas de software Captusen y Potencor diseñadas en la UNAM y modificadas para los requerimientos del presente estudio (Guevara, 1988, 1995). Tanto para la captura y revisión de señales, la obtención de los espectros de potencia de las señales capturadas, el delimitar las bandas de frecuencia, así como obtener los valores de potencia absoluta, relativa y los índices de correlación además de los componentes principales del espectro de frecuencias de la actividad eléctrica. La utilización de dichas rutinas nos permitió evaluar los parámetros espectrales y la correlación inter e intrahemisférica de los sujetos experimentales.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos en el análisis de todos los sujetos se compararon estadísticamente mediante pruebas de varianza (ANOVA) en un diseño mixto de parcelas divididas de dos factores y tres factores para determinar las diferencias significativas en los parámetros de dieta, actividad eléctrica cortical y ARL del hipocampo. Dado el número importante de comparaciones efectuadas se consideró una $p < 0.01$ o mayor para permitir una mayor confiabilidad a las comparaciones estadísticas, finalmente se aplicó la prueba de Tukey *post hoc* al 5%, para establecer las diferencias significativas entre los parámetros y grupos experimentales.

RESULTADOS

Se realizó la histología de los cerebros de ratas macho Co, MCr y MPr de 30 días de edad para obtener la localización de los electrodos en el hipocampo.

Se obtuvieron cortes de 80 micras y se tiñeron con la técnica de NISSL, para comprobar que se encontraban en el área CA1 de la FH, como se muestra en la Fig. 10.

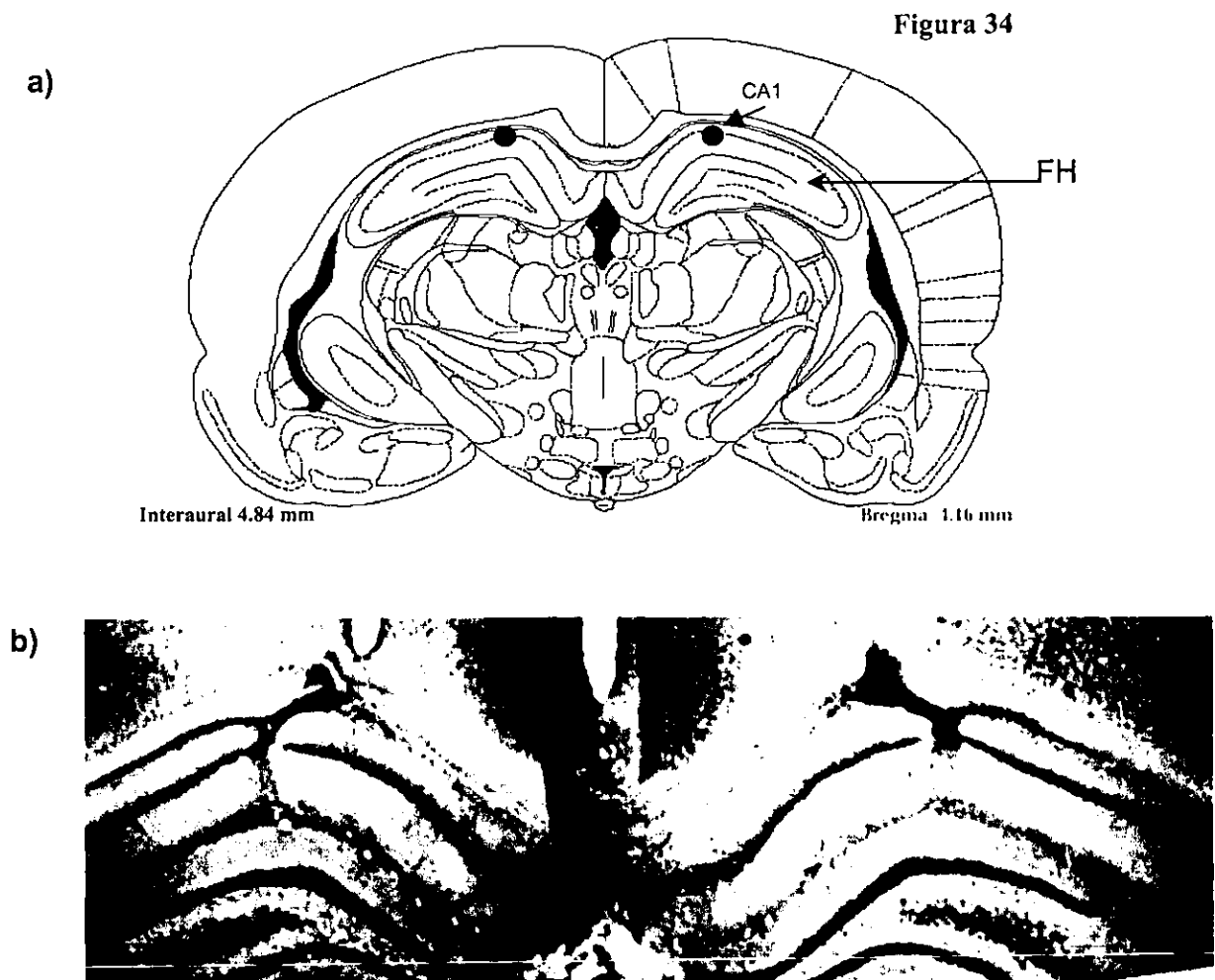


Fig. 10. a) Esquema de referencia para la localización del CA1 de la Formación Hipocámpica (FH) correspondiente a la lámina no. 34 del atlas de Paxinos y Watson (1983). b) Corte histológico de 80 micras con tinción de Nissl. Cicatriz en el sitio del implante (CA1), una vez retirados los electrodos en una rata de 30 días de edad.

Análisis del patrón temporal circadiano de la correlación inter e intrahemisférica y la actividad eléctrica cerebral en la rata normal de 30 días de edad.

En las Fig. 11-14 se presentan los gráficos de los resultados obtenidos para la correlación interhemisférica de los hipocampos y las cortezas y la correlación intrahemisférica del hipocampo vs. su corteza respectiva. Así como la comparación de la potencia absoluta y relativa para cada frecuencia en las estructuras mencionadas en animales controles de 30 días de edad.

El objetivo de este análisis fue obtener los datos normativos que permitieran, en ratas normales de 30 días de edad, por un lado, conocer el comportamiento de la actividad eléctrica, cortical e hipocámpica y por otro, describir las variaciones espacio-temporales tanto de la potencia como de los índices de correlación (r). Finalmente, determinar la hora circádica en la cual realizar los registros de los estados de vigilancia considerando, tanto la frecuencia de aparición de los ciclos de sueño, como la duración en el tiempo de éstos para obtener los registros de la actividad eléctrica cortical e hipocámpica y así comparar los resultados de los grupos Co, MPr y MCr.

Los gráficos muestran únicamente los registros durante los cambios de luz-oscuridad en un ciclo 12:12, es decir, la primera hora de oscuridad, la última hora de oscuridad, la primera hora de luz y la última hora de luz, tanto para las potencias absoluta y relativa, como para el índice de correlación de las frecuencias 1-25 Hz. Para este análisis no fueron considerados los estados de vigilancia y se promediaron los datos obtenidos durante 48 horas de registro.

Al analizar la actividad eléctrica de las cortezas occipitales y formaciones hipocámpicas izquierdas y derechas, fue evidente que el hemisferio izquierdo presentó mayor potencia absoluta. Además, la morfología de la banda de frecuencias (1-25 Hz) en ambos hemisferios fue distinta en los cuatro puntos horarios estudiados, principalmente se puede observar una disminución en las potencias de las frecuencias lentas en paralelo a un aumento en las frecuencias

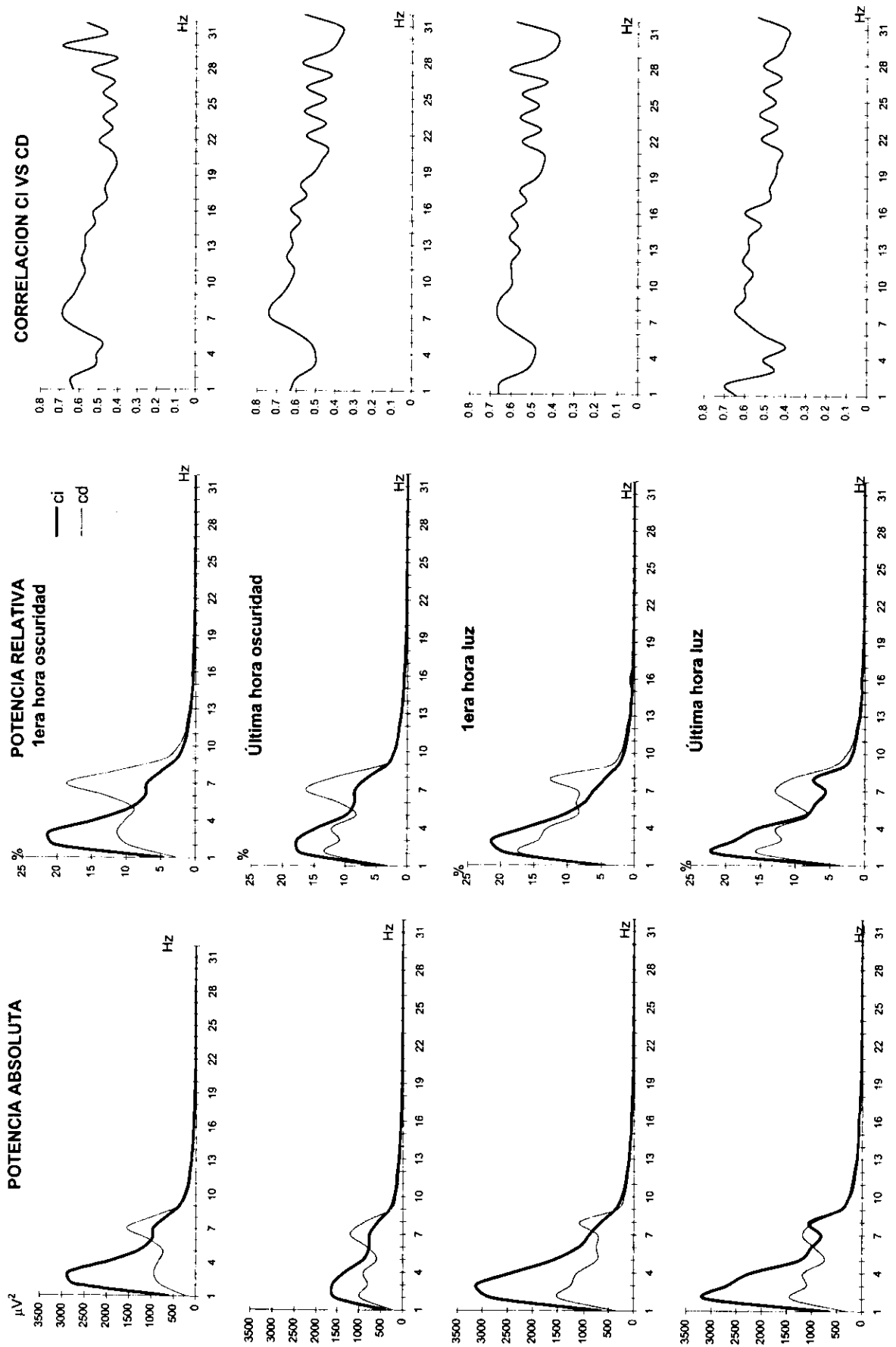


Fig. 11. Se muestran las gráficas de las potencias absolutas y relativas de la actividad eléctrica cortical, así como su correlación interhemisférica en el grupo Co; durante la primera y última horas de la fase de luz y la primera y última horas de la fase de oscuridad. Se exhibe un caso representativo.

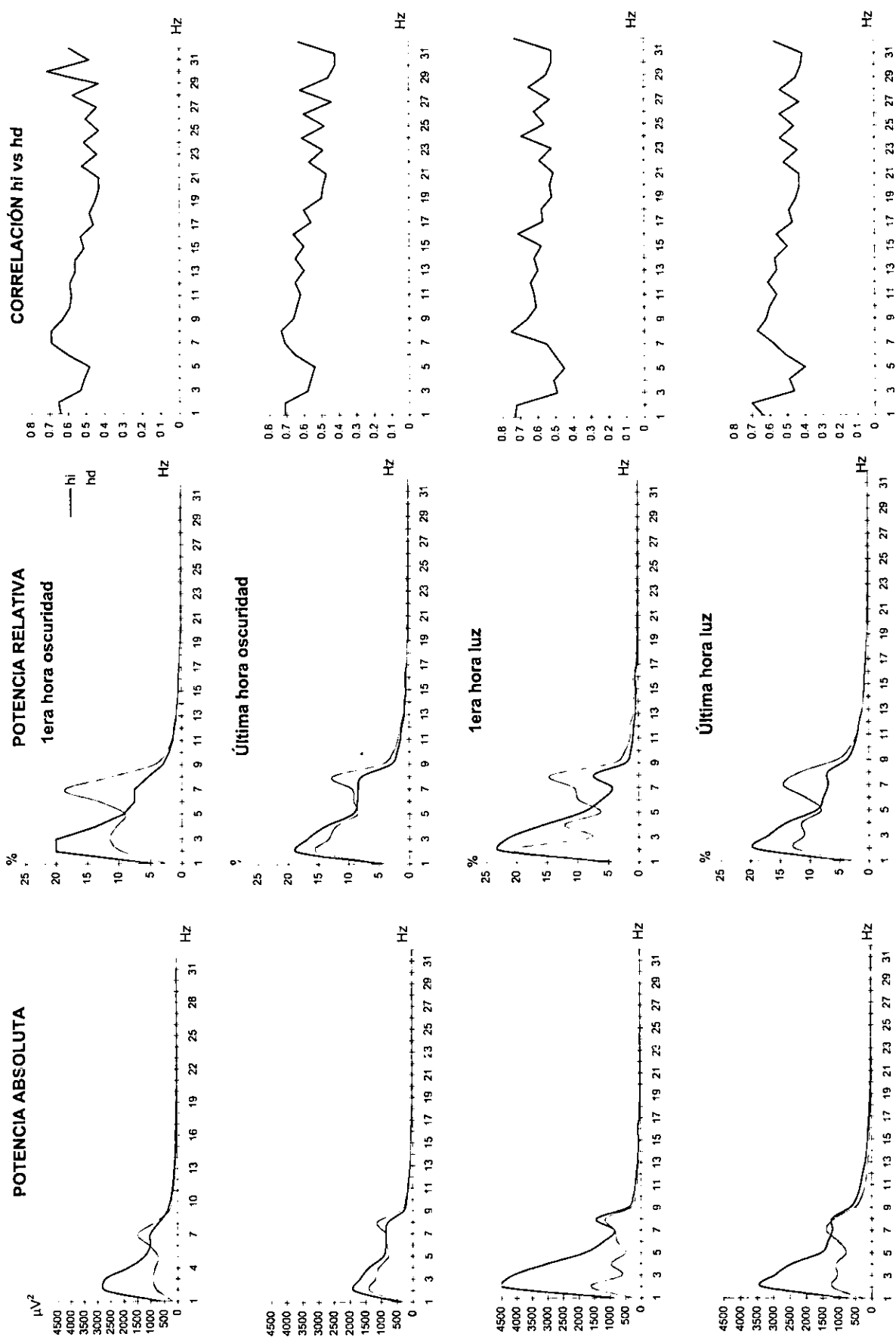


Fig. 12. Se muestran las gráficas de las potencias absolutas y relativas de la actividad eléctrica hipocámpica y su correlación interhemisférica en el grupo Co; durante la primera y la última hora de las fases de luz y oscuridad. Se exhibe un caso representativo.

de 7-9 Hz en el hemisferio derecho, durante las horas de oscuridad, mientras que en la fase de luz, tanto la potencia absoluta como la relativa presentan un comportamiento bifásico en ambos hemisferios, pero más marcado en el derecho que en el izquierdo. Por otro lado, la correlación interhemisférica en los puntos horarios analizados fluctúa entre 0.35 a 0.7 del índice de correlación, los cuales son valores que indican que la correlación entre las señales generadas en cada hemisferio es baja (Figs. 11 y 12).

Posteriormente, se analizaron las potencias absolutas y relativas así como la correlación intrahemisférica de la corteza y su hipocampo ipsilateral. En este caso, se observaron en los cuatro puntos horarios establecidos, únicamente cambios en la potencia absoluta y la morfología tanto de la potencia absoluta como la relativa. Mientras tanto, el índice r se mantuvo alto (0.9-0.98) durante la fase de oscuridad y disminuyó levemente durante el periodo de luz (0.85-0.98), principalmente para las frecuencias rápidas del espectro electrocorticográfico (1-25 Hz). Se observa que la primera hora del periodo de oscuridad y la última del periodo de luz, presentan las potencias absolutas muy similares y los índices de correlación son muy altos. Éstos se mantienen altos durante las horas intermedias del cambio de oscuridad a luz, presentando, sin embargo, diferencias en la morfología del espectro de frecuencias.

Es evidente, por los resultados anteriores que la correlación intrahemisférica entre la formación hipocámpica y la corteza occipital es elevada, mientras que la correlación interhemisférica varía en las horas intermedias, del cambio de oscuridad a luz, la correlación se disminuye y la potencia del hipocampo se aumenta (ver Figs. 13 y 14).

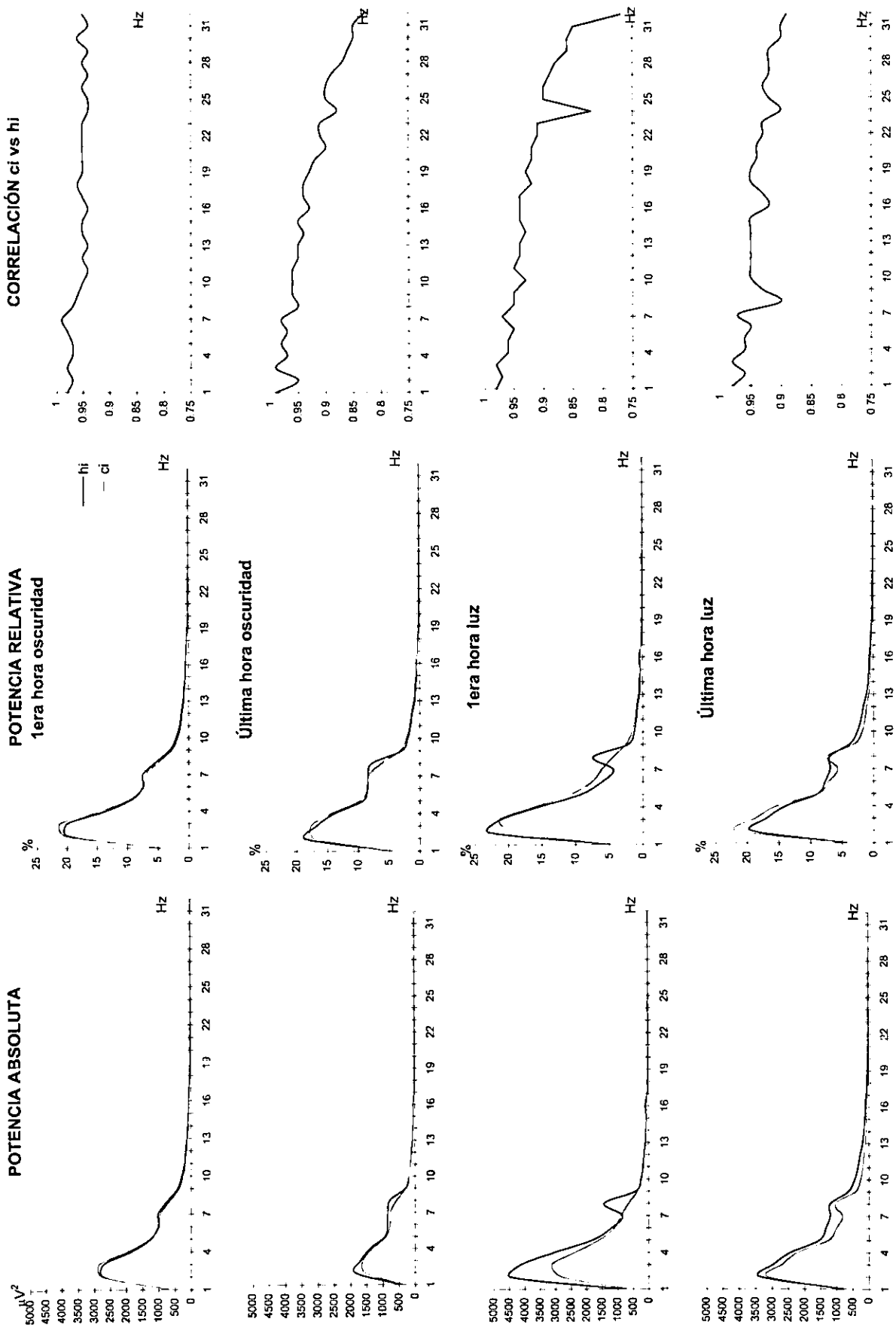


Fig. 13. Se muestran las gráficas de las potencias absolutas y relativas de la actividad eléctrica de la corteza y el hipocampo izquierdos, así como su correlación (intrahemisférica) en el grupo Co; durante la primera y última horas de las fases de luz y de oscuridad. Se exhibe un caso representativo.

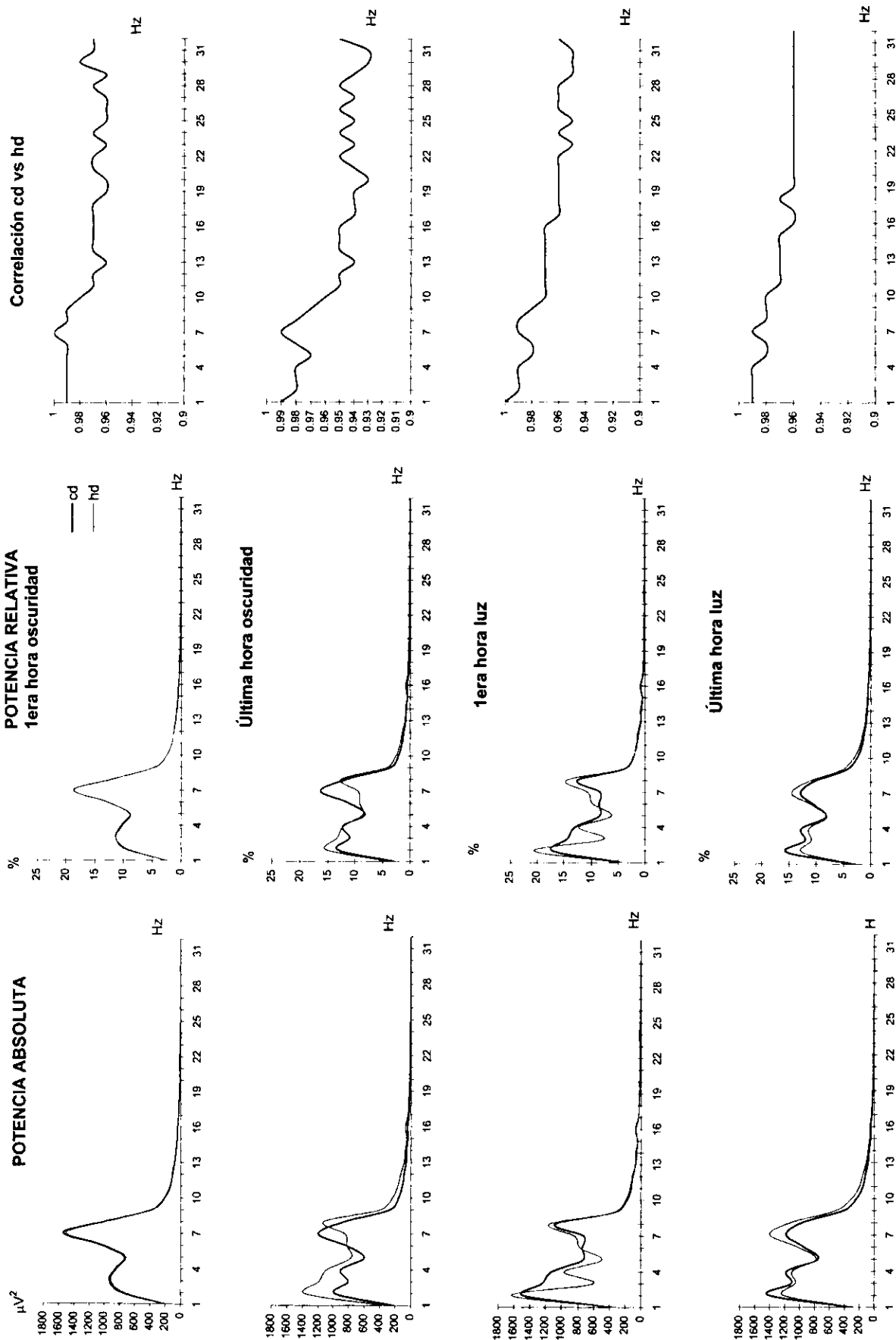


Fig. 14 Se muestran las gráficas de las potencias absolutas y relativas de la actividad eléctrica de la corteza y el hipocampo derechos, así como su correlación (intrahemisférica) en el grupo Co; durante la primera y última horas de luz y oscuridad. Se exhibe un caso representativo.

Análisis Espectral de los Estados de Vigilancia.

Se analizó el comportamiento espacio-temporal durante 24 horas de los estados de vigilancia en los grupos Co, MPr y MCr a los 30 días de edad, así como la actividad del ECoG, los primeros mediante el tradicional análisis visual y la segunda empleando la trasformada rápida de Fourier para las bandas delta (0.75- 3.75 Hz), theta (4-11.75 Hz) y de actividad rápida (12-25 Hz).

Los tres estados de vigilancia estudiados, vigilia, sueño de ondas lentas y sueño MOR fueron graficados en intervalos de 4 horas el día que los animales cumplieron los 30 días de edad (ver Fig. 15).

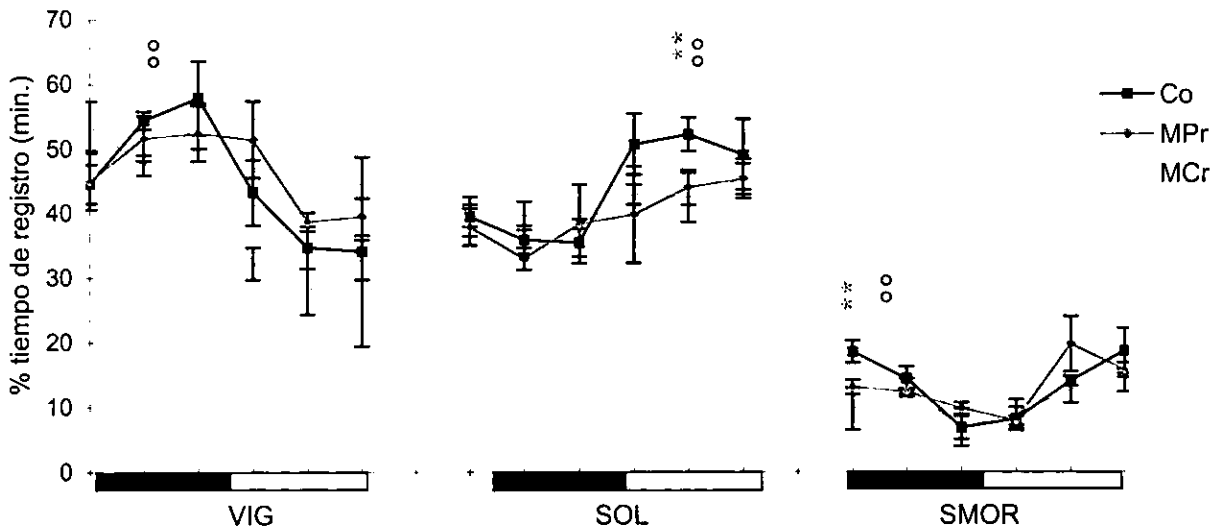


Fig. 15. Registro continuo de 24 horas de los estados de vigilancia en los grupos Co, MPr y MCr. Cada punto representa la media del porcentaje de 4 horas de registro. VIG= vigilia, SOL= sueño de ondas lentas, SMOR= sueño MOR. ** Co vs MPr, ° Co vs MCr; $p < 0.01$, Tukey *post hoc*.

Durante el análisis visual a lo largo de las 24 horas del registro se observó que los MCr y MPr presentaron una disminución significativa de la vigilia ($p < 0.01$) y el SMOR en el primer bloque de la fase de oscuridad, mientras el SOL presentó una disminución significativa únicamente en el bloque intermedio de la fase de luz.

En un experimento previo (Durán, 1995) se realizaron las comparaciones de los análisis espectrales de los tres grupos, durante registros de la actividad ECoG de 24 horas. En dicho estudio se observaron sólo diferencias significativas ($p < 0.05$) en la banda de frecuencias de 12 a 25 Hz, denominada de actividad rápida. Las diferencias se encontraron tanto para el MCr como el MPr en la primera hora del cambio de oscuridad a luz y sólo para el MPr en la última hora de luz.

En el presente trabajo, en registros de 24 horas, se compararon los comportamientos de los estados de vigilancia y las bandas de frecuencias características para cada uno de ellos, es decir, SOL y delta (0.75-4.0 Hz), SMOR y theta (4.0-12.0 Hz) y VIG con actividad rápida (12.0-25.0 Hz); para observar, por un lado el comportamiento circadiano y por otro, las similitudes y diferencias entre los primeros y las segundas. Además se compararon en los tres grupos CO, MPr y MCr. Para poder advertir más detalladamente el patrón temporal circádico se graficaron los datos en "doble plot" (ver Fig. 16).

En el grupo control se observó que tanto la actividad delta como el SOL presentan una distribución temporal a lo largo de 24 horas muy similar, este hecho apoya la idea de que el SOL se rige por un proceso homeostático regulado por la actividad lenta del ECoG. Sin embargo, la vigilia y la actividad rápida electrocorticográfica no presentan ninguna similitud morfológica, mientras que la actividad eléctrica theta correlaciona mejor con la morfológica de la vigilia, esto puede ser debido a que en la rata la actividad rítmica theta se presenta tanto en vigilia como en SMOR. Algo notable en estas comparaciones es que, sin lugar a dudas tanto los estados de vigilancia, como la actividad eléctrica cerebral presentan una distribución temporal circadiana (ver Fig. 16).

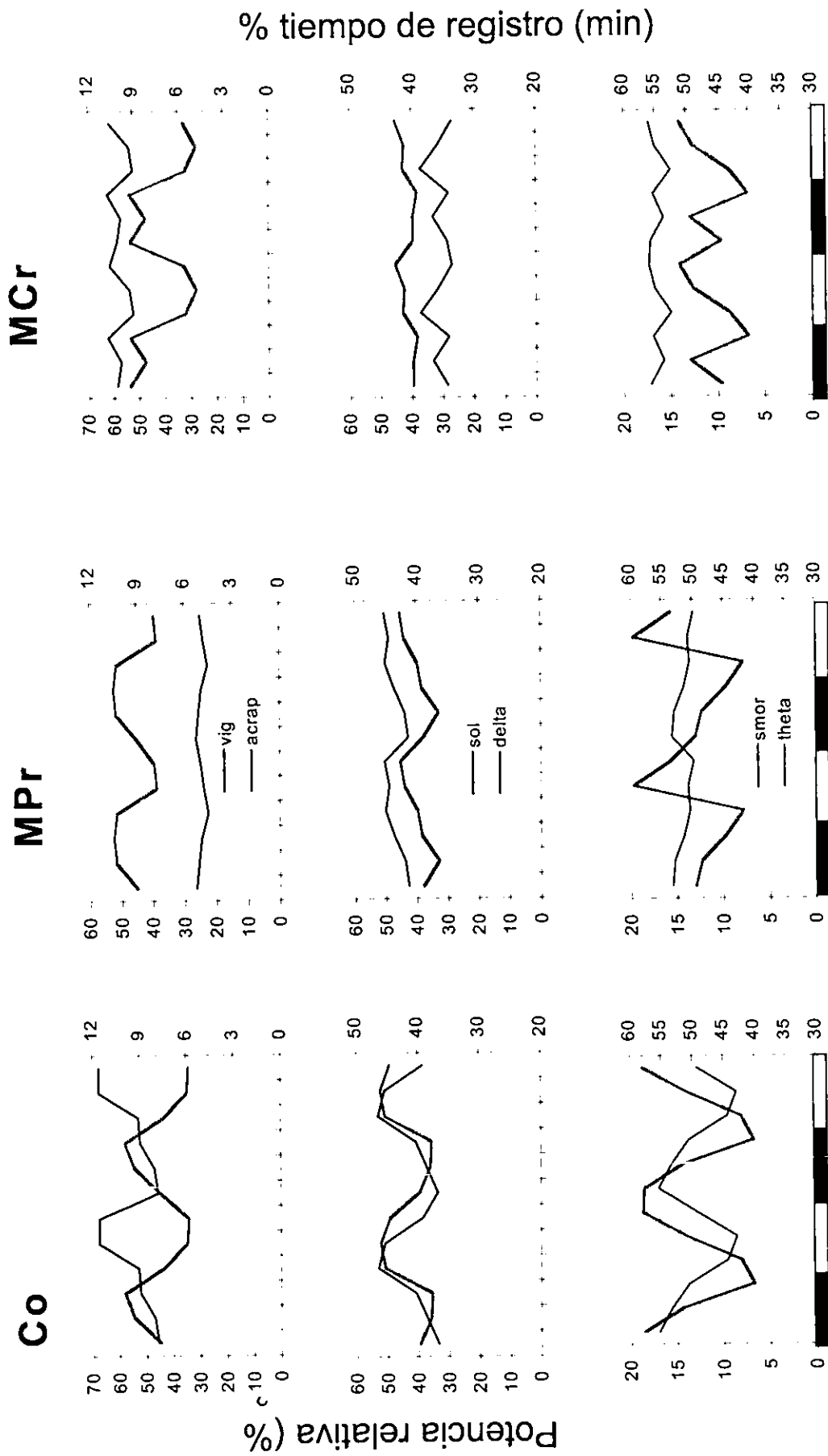


Fig. 16. Se muestran las gráficas combinadas en "doble plot", del tiempo de registro de los estados de vigilancia: vigilia VIG, sueño de ondas lentas, SOL y sueño MOR, SMOR; y la potencia relativa de las bandas tradicionales de frecuencia, delta, theta y actividad rápida, en los grupos control Co, malnutrido prenatalmente MPr y malnutrido crónico MCr, a los 30 días de edad. Se comparan la distribución temporal de los patrones de los estados de vigilancia vs. la banda de actividad eléctrica característica para cada estado. Nótese el comportamiento en los tres grupos en la comparación de la banda delta y el SOL y la banda theta y el SMOR (ver descripción en el texto).

Por otro lado, los MPr y MCr, mostraron alteraciones en la distribución temporal de los estados de vigilia, presentando retrasos (para SOL) o avances de fase (para vigilia y SMOR) resultados que fueron reportados previamente por Durán (1993) tanto en los estados de vigilia como en la actividad eléctrica cerebral. Además, en la actividad ECoG, se observa una alteración en la potencia (disminución en el caso de los MPr y aumento en los MCr con respecto al Co), la distribución temporal circadiana es muy poco evidente (ver Fig. 16).

Para completar la inspección de los estados de vigilia se llevó a cabo un análisis espectral de cada uno de ellos, considerando los logaritmos naturales de la potencia tanto absoluta como relativa de las bandas de actividad eléctrica cerebral tradicionales para la rata (delta, theta y actividad rápida).

En este análisis se observó que existe una tendencia del predominio de delta para el SOL y frecuencias lentas y un componente de frecuencias del ritmo theta en la vigilia. El predominio de theta (4-12Hz) durante el SMOR, y en los tres estados de vigilia un componente importante de actividad rápida. El estado de vigilia que presenta mayor potencia total es el SMOR, seguido del SOL y la vigilia (ver Fig. 17).

Cuando se graficaron los resultados obtenidos de un análisis de Fourier para cada frecuencia fue evidente que cada uno de los estados de VIG, SOL y SMOR presentaron una potencia tanto absoluta como relativa independiente de los otros estados. Un hallazgo interesante fue la presencia de 2 picos, uno ubicado en la frecuencia de 7 Hz, durante el SMOR y otro en la frecuencia de 8 Hz durante la vigilia, ambos picos presentaron diferente amplitud y conformación, lo cual nos sugiere que se trata quizá de dos poblaciones neuronales con osciladores independientes que reflejan las diferencias conductuales de ambos estados de vigilia, VIG y SMOR (ver Fig. 18).

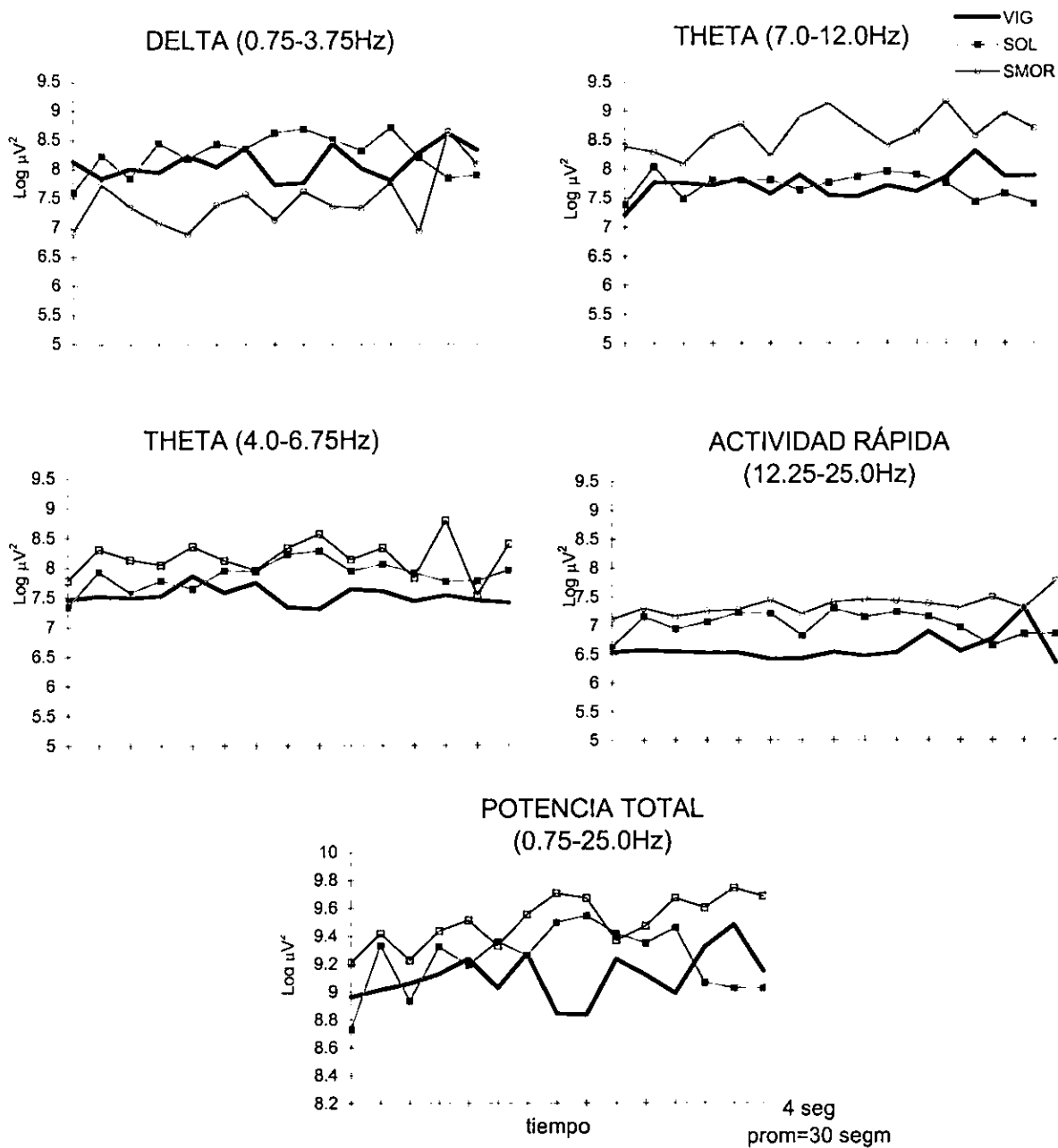


Fig. 17. Se muestran las gráficas de los logaritmos de las potencias absolutas para cada banda, así como la potencia total, en los diferentes estados de vigilancia: vigilia VIG, sueño de ondas lentas SOL, sueño MOR SMOR. $n = 8$ ratas de 30 días, promedio de 30 segmentos de 4 seg cada uno por animal.

ESPECTRO DE FRECUENCIAS

Fig. 18. Se muestra el comportamiento, en potencia relativa ($\% \mu V^2$) y logaritmos de la potencia absoluta ($\log \mu V^2$), los datos fueron obtenidos mediante la transformada de Fourier en cada frecuencia, para cada uno de los estados VIG, SOL y SMOR en ratas de 30 días de edad. Nótese el pico en la frecuencia de 7.0 Hz que se presenta en SMOR y el pico de 8.0 Hz que se observa durante la VIG. $n=8$ sujetos (ver estadística descriptiva en Apendice A).

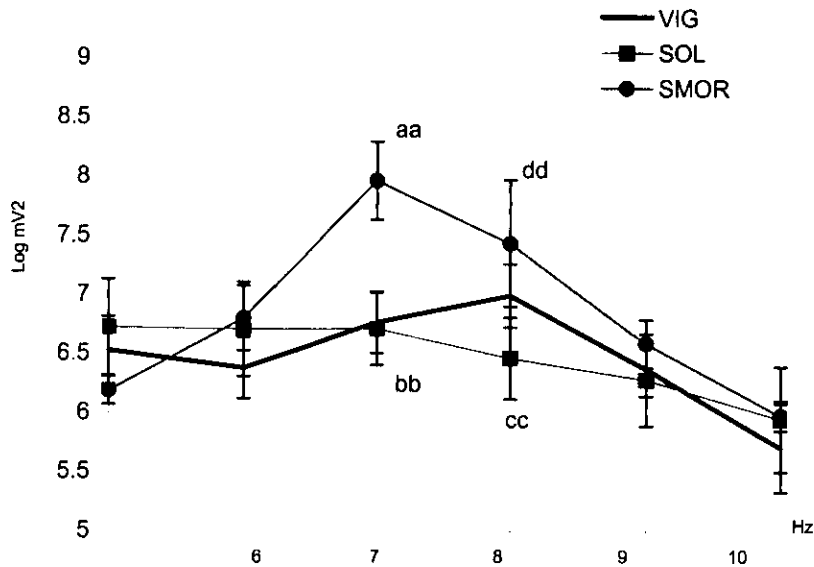
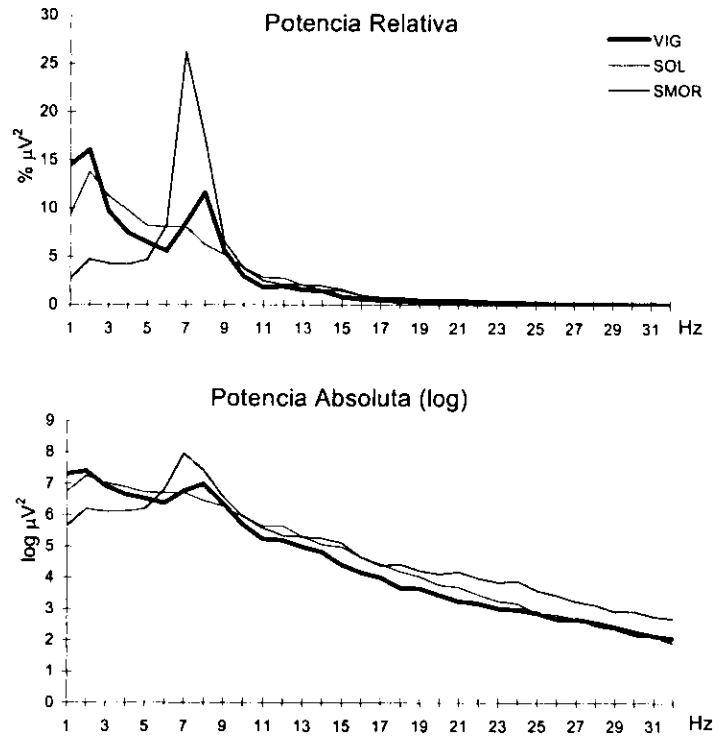


Fig. 19. Grafica de los logaritmos de la potencia absoluta de las frecuencias 5-10 Hz, durante los 3 estados de vigilancia, VIG= vigilia, SOL= sueño de ondas lentas y SMOR= sueño MOR. ANOVA ($p < 0.01$) aa SMOR vs VIG; bb SMOR vs SOL; cc VIG vs SMOR; dd VIG vs SOL. Se realizó una prueba *post hoc* de Tukey.

Se realizó un análisis de varianza de la potencia absoluta de las frecuencias de 5-10 Hz para determinar las diferencias significativas ($p < 0.01$) entre los picos encontrados para la VIG y el SMOR. Dichas diferencias se localizaron al comparar el SMOR vs. SOL y SMOR vs. VIG en la frecuencia de 7.0 Hz, y cuando se compararon VIG vs. SMOR y VIG vs. SOL, en la frecuencia de 8.0 Hz. (ver Fig. 19).

Análisis de Componentes Principales para el Grupo Control

El análisis de componentes principales (ACP) es una técnica estadística multivariada que permite la transformación lineal de una serie original de variables en un grupo de variables no correlacionadas sustancialmente menor, llamado componentes principales (CP). Este tipo de análisis no asume *a priori* la estructura de los datos. Los componentes resultantes son combinaciones lineares de las variables originales que sucesivamente maximizan el total de la varianza entre todas ellas. En algunos casos, se puede buscar la máxima varianza entre las series de variables, utilizando el método VARIMAX se obtienen los componentes ortogonales y se eliminan las variables que no están afectando datos.

Se aplicó el ACP a las frecuencias del electrocorticograma de los estados de vigilancia por cada Hertz con el propósito de determinar cuáles de ellas covariaban juntas y cuáles eran independientes. Así, con los CP se obtuvo el agrupamiento natural de las frecuencias del ECoG en la rata normal de 30 días de edad. El eigenvector fue fijado a 0.6 como valor mínimo (se aplicó una rotación varimax), para definir cada componente principal (ver Tabla III).

Tabla III

Análisis de Componentes Principales de la correlación del ECoG de los estados de vigilia por cada Hz en ratas normales de 30 días de edad. Valores rotados.

VIG				SOL				SMOR			
Hz	Eigenvectores			Hz	Eigenvectores			Hz	Eigenvectores		
	1	2	3		1	2	3		1	2	3
1.0	-0.399	-0.869	0.293	1.0	0.978	0.094	-0.185	1.0	0.636	-0.564	0.526
2.0	-0.106	-0.994	0.008	2.0	-0.303	-0.948	-0.094	2.0	0.834	0.092	0.545
3.0	0.440	0.522	0.731	3.0	-0.819	-0.574	0.007	3.0	0.730	0.651	0.210
4.0	-0.273	0.259	0.927	4.0	-0.830	-0.233	-0.506	4.0	0.898	0.148	0.415
5.0	0.489	0.119	0.864	5.0	-1.000	-0.025	0.016	5.0	0.964	0.235	0.124
6.0	0.065	0.508	-0.859	6.0	-0.998	-0.054	0.021	6.0	-0.096	0.993	-0.070
7.0	-0.040	0.834	-0.550	7.0	0.382	-0.044	0.923	7.0	-0.988	0.022	0.151
8.0	-0.464	0.600	-0.652	8.0	0.864	0.499	-0.065	8.0	-0.887	-0.249	-0.391
9.0	-0.215	0.976	0.036	9.0	-0.020	0.960	0.279	9.0	0.999	-0.022	-0.036
10.0	0.419	-0.900	0.119	10.0	0.195	0.979	0.066	10.0	0.894	-0.439	-0.085
11.0	0.814	-0.017	0.580	11.0	0.125	0.990	-0.061	11.0	0.711	-0.479	0.516
12.0	0.996	-0.061	0.070	12.0	0.222	0.969	-0.111	12.0	0.986	-0.078	0.145
13.0	0.958	-0.164	0.236	13.0	-0.015	0.918	0.396	13.0	0.965	-0.252	0.079
14.0	0.985	0.169	0.045	14.0	0.418	0.690	0.590	14.0	0.957	-0.279	0.077
15.0	0.974	0.224	-0.041	15.0	0.920	0.359	0.159	15.0	0.806	-0.587	0.069
16.0	0.950	0.313	-0.006	16.0	0.491	0.834	0.251	16.0	0.945	-0.314	0.095
17.0	0.731	0.679	0.065	17.0	-0.220	0.268	0.938	17.0	0.945	0.117	0.305
18.0	0.823	0.565	0.056	18.0	0.790	0.476	0.385	18.0	0.491	0.870	-0.051
19.0	0.597	0.787	0.115	19.0	0.745	0.653	0.134	19.0	0.632	0.770	0.092
20.0	0.637	0.757	0.148	20.0	0.617	0.761	0.198	20.0	-0.531	0.841	-0.101
21.0	0.614	0.762	0.205	21.0	0.909	0.234	0.345	21.0	-0.049	0.997	0.043
22.0	0.468	0.838	0.282	22.0	0.990	0.097	0.103	22.0	-0.308	0.694	-0.651
23.0	0.609	0.790	0.063	23.0	0.596	0.641	0.483	23.0	-0.161	0.829	0.536
24.0	0.647	0.759	0.073	24.0	0.896	0.152	0.415	24.0	-0.068	0.998	-0.025
25.0	0.616	0.765	0.186	25.0	0.699	0.539	0.468	25.0	-0.116	0.959	-0.258
%va	60.12	87.17	99.99	%va	69.46	89.99	99.98	%va	59.35	93.88	99.99

VIG= vigilia, SOL= sueño de ondas lentas, SMOR= sueño de movimientos oculares rápidos, %va=porcentaje de varianza acumulada.

Los CP en vigilia revelaron 2 componentes, el primero (3-8 Hz) y el segundo de 7-10 Hz, ambos incluidos en los límites de la tradicional banda theta (4-12 Hz, en la rata). En SOL el análisis mostró un componente que agrupó a las frecuencias lentas (3-6 Hz) y rápidas (18-25 Hz), indicando una relación inversamente proporcional entre ellas. En el SMOR el primer componente involucró dos bandas 1-5 y 7-17 Hz (esta banda incluye frecuencias de la tradicional banda theta).

Estos resultados muestran que en la rata joven, existe una relación entre los estados de vigilancia y la distribución específica de la actividad eléctrica en el rango de frecuencias estudiadas (1-32 Hz). De acuerdo con nuestros resultados, es claro que la banda theta tradicional, está compuesta en la VIG por dos bandas 3-8 y 7-10 Hz (obtenidos con CP). Sin embargo, en el SMOR encontramos solamente una banda (de CP) 7-17 Hz, también incluyendo la banda theta (ver Fig. 20).

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES DE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA

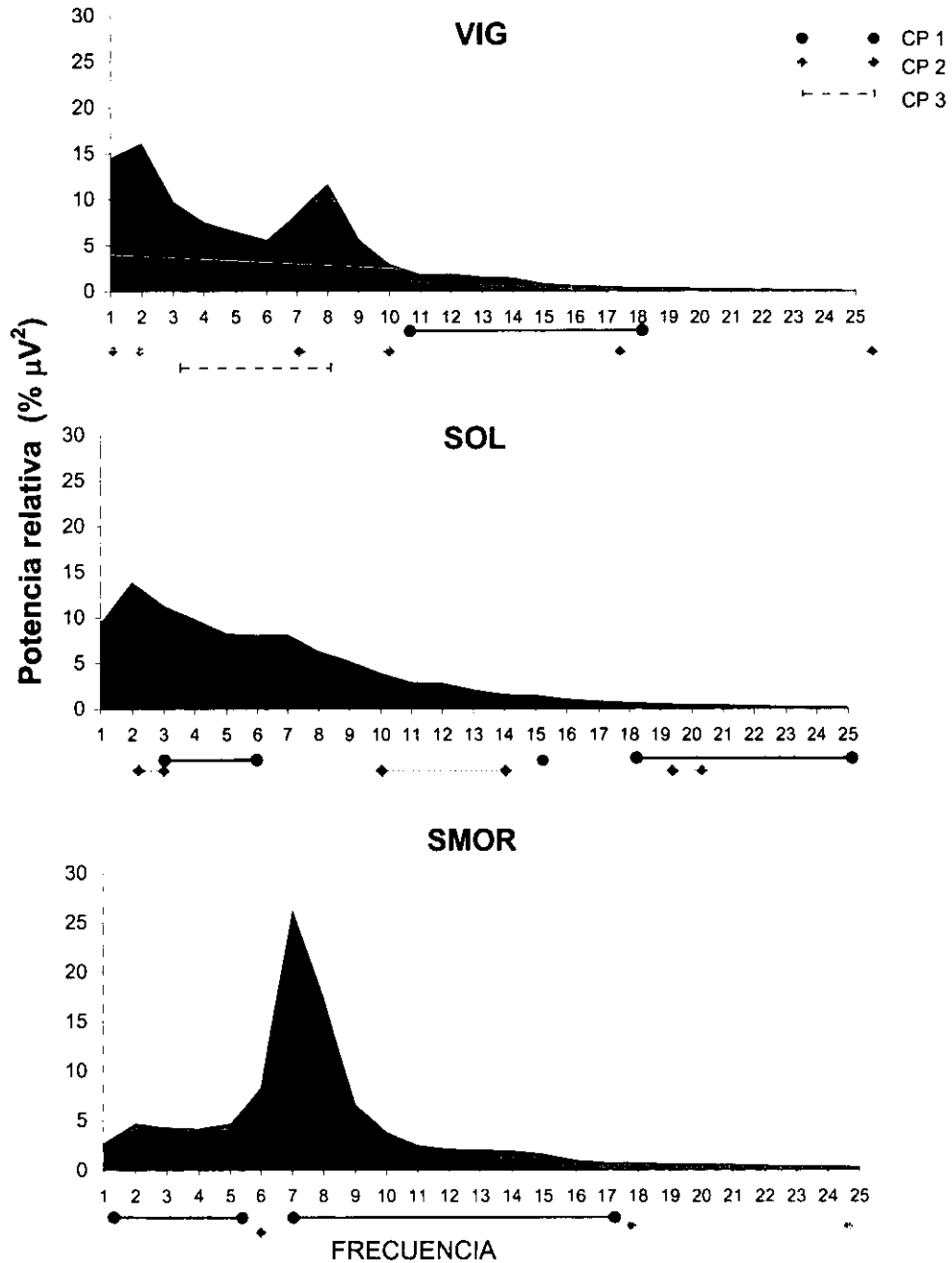


Fig. 20. Se muestra el análisis de componentes principales de los estados de vigilancia en la rata normal de 30 días de edad ($n=10$). Para cada estado se seleccionaron 30 segmentos libres de artefacto para cada estado de vigilancia. CP= componente principal.

Análisis de la Potencia Relativa de los Estados de Vigilancia.

Una vez conocido el agrupamiento natural de las bandas de frecuencia del ECoG de la rata de 30 días de edad, para determinar las alteraciones producidas por la malnutrición sobre éste, se realizó el análisis de la potencia relativa para los grupos Co, MPr y MCr. Se obtuvieron, por sujeto, 50 segmentos libres de artefacto para la formación hipocámpica izquierda (hi), derecha (hd), la corteza occipital izquierda (ci) y la derecha (cd).

Vigilia. En la comparación estadística (ver tabla IV) se encontraron diferencias significativas al comparar al grupo control con el MCr en el hi en las frecuencias de 1, y 4-10 Hz, en el hd en las frecuencias de 1 y 4-8 Hz, en la ci en 1, 3-7 y 9 Hz, en la cd en las frecuencias de 1 a 8 Hz.

Cuando se compararon el grupo Co vs. el grupo MPr se encontraron diferencias significativas en el hi) 1 y 3-7 Hz; en hd) 1-3 Hz y 5-8 Hz en ci) 1-2Hz y 4-9 Hz y , finalmente en cd) 1-8 Hz.

Al efectuar la comparación entre el grupo MCr vs. el MPr se encontraron diferencias significativas en el hi y la ci en las frecuencias de 1-3 Hz; en el hd en los 2,3 y 8 Hz y en la cd, 1,2 y 8 Hz (ver Fig. 21)

Estos resultados muestran que el agrupamiento natural de las bandas en la rata de 30 días de edad se lesiona fuertemente por la malnutrición, ya sea ésta prenatal o crónica.

Sueño de Ondas Lentas. El comportamiento de la potencia relativa durante el SOL en los hipocampos derecho e izquierdo y las cortezas derecha e izquierda de los grupos MPr y MCr, también presentó cambios significativos con respecto al Co. En la comparación estadística (ver tabla IV) entre el Co vs. el MCr se encontraron diferencias significativas en: el hi) 1-5 Hz y 7-11 Hz; el hd) 1-4 Hz y 6-11Hz; la ci) 1, 4-5, y 8-9 Hz, y la cd) 1-2Hz y 4-5 Hz. Al comparar los grupos Co y

MPr se encontraron diferencias significativas en: el hi) 1-4 Hz y 8 Hz; el hd) 1, 3, 4 y 8 Hz; la ci) 1, 3-4, 8-9 Hz, y la cd) 1-3 y 7 Hz.

Finalmente, al efectuar la comparación entre el MCr y MPr se encontraron diferencias significativas en el hi en 1-12 Hz, en el hd 1-2, 4-10 Hz, en la ci de 2 a 5 Hz y 8 a 9 Hz; y en la cd 1 y 3-7 Hz (ver Fig. 21).

Para este estado de vigilancia, de nuevo se presentaron las diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias agrupadas por los CP en el grupo Co.

Sueño MOR. El análisis de la potencia relativa de las formaciones hipocámpicas y las cortezas izquierdas y derechas durante el SMOR mostró que la frecuencia predominante de 7 Hz, encontrada en el Co, se presenta también en los MPr y MCr. No se observaron cambios significativos en el hipocampo izquierdo al compararse los grupos malnutridos con respecto al control, ni tampoco entre ellos mismos, sin embargo, en la formación hipocámpica derecha y la corteza izquierda se presentó un aumento en la amplitud de esta frecuencia, mientras que en la corteza derecha se presentó, en el grupo con malnutrición crónica un pico de frecuencia a los 2 Hz, con una amplitud similar a la del pico a los 7 Hz, muy similar en los tres grupos. Los puntos dónde el análisis estadístico (ver tabla IV) marcó diferencias significativas fueron en la comparación del Co vs. el MCr, en el hi) 1, 5 y 6 Hz; el hd) 5 y 8 Hz; la ci) 1 y 4-7 Hz y la cd) 2 y 4 Hz.

En la comparación del control vs. el malnutrido prenatal se encontraron diferencias significativas en el hi en las frecuencias de 1, 5 y 6 Hz, en el hd en las frecuencias 1 y 2 y 5-8 Hz, en la ci en las frecuencias de 1-5 y 7 y 8 Hz y en la corteza derecha en las frecuencias de 1 y 4-6 Hz.

En la comparación entre los grupos malnutridos crónico y prenatal, se encontraron las siguientes diferencias significativas para el hi en los 7 Hz, en el hd en las frecuencias de 1-8 Hz y en las cortezas izquierda y derecha en las frecuencias de 2 y 6-8 Hz (ver Fig. 21).

Análisis de Potencia Relativa

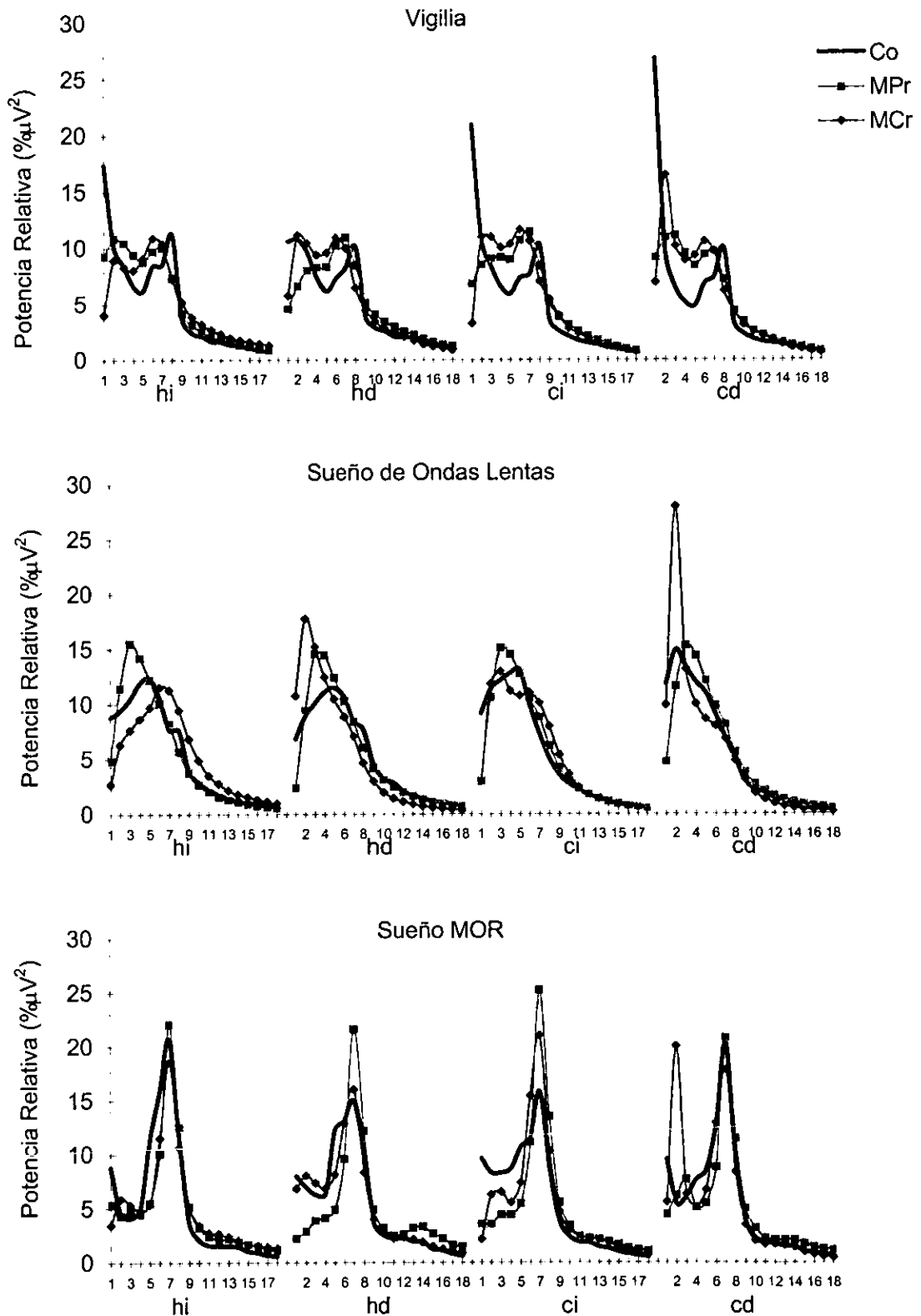


Fig. 21. Se grafica la potencia relativa de la actividad eléctrica hipocámpica y cortical izquierda y derecha durante la VIGILIA, SUEÑO DE ONDAS LENTAS Y SUEÑO MOR, para los grupos control, malnutrido crónico y malnutrido prenatalmente. Se consideró para cada estado, el promedio de 50 segmentos libres de artefacto por animal (n por grupo = 10 Sujetos) hi= hipocampo izquierdo, hd= hipocampo derecho, ci= corteza izquierda, cd= corteza derecha, Co= control, MCr= malnutrido crónico, MPr= malnutrido prenatalmente.

Tabla IV

		Potencia Relativa (% μ V ²)																	
		Vigilia						Sueño de Ondas Lentas						Sueño MOR					
H _z	Co	ee	MPr	ee	MCr	ee	Co	ee	MPr	ee	MCr	ee	Co	ee	MPr	ee	MCr	ee	
HI	1	17.383	1.219	9.26	0.944	4.065	0.268	8.782	0.884	4.821	0.55	2.709	0.166	8.794	2.358	5.353	1.871	3.487	0.496
	2	10.136	0.403	10.832	0.732	8.914	0.559	9.4	0.587	11.46	0.544	6.272	0.434	4.473	0.573	4.351	0.589	5.883	0.81
	3	8.404	0.309	10.447	0.436	8.304	0.446	10.453	0.365	15.506	0.261	7.609	0.435	4.121	0.436	4.712	0.417	5.326	0.682
	4	6.611	0.253	9.405	0.324	8.02	0.414	11.93	0.574	14.202	0.237	8.623	0.299	4.915	0.617	4.496	0.335	4.83	0.401
	5	6.172	0.275	8.773	0.288	9.068	0.402	12.408	0.733	12.207	0.301	9.717	0.144	11.34	2.295	5.533	0.452	5.398	0.241
	6	8.402	0.367	9.712	0.392	10.9	0.594	10.584	0.624	10.047	0.254	11.537	0.26	15.818	1.487	10.056	0.746	11.524	1.012
	7	8.524	0.575	10.02	0.522	10.373	0.695	7.639	0.389	8.17	0.23	11.305	0.402	20.686	1.573	22.077	1.391	18.536	1.803
	8	11.203	0.873	7.369	0.403	7.245	0.377	7.578	0.666	5.666	0.152	9.451	0.353	11.323	1.956	12.536	0.988	10.676	0.833
	9	3.651	0.142	4.158	0.169	5.177	0.206	3.908	0.195	3.751	0.105	6.794	0.24	3.582	0.311	5.161	0.375	5.222	0.18
	10	2.407	0.089	3.11	0.136	3.826	0.121	2.874	0.106	2.636	0.078	4.885	0.162	2.072	0.134	3.249	0.214	3.445	0.117
	11	2.12	0.101	2.492	0.137	3.195	0.099	2.223	0.086	2.038	0.053	3.513	0.09	1.594	0.103	2.452	0.15	2.738	0.084
	12	1.665	0.07	2.045	0.084	2.691	0.092	1.765	0.073	1.548	0.044	2.77	0.055	1.553	0.115	2.135	0.137	2.668	0.082
	13	1.532	0.068	1.757	0.077	2.302	0.068	1.463	0.072	1.294	0.039	2.157	0.041	1.493	0.125	2.101	0.106	2.366	0.077
	14	1.407	0.061	1.504	0.08	1.949	0.067	1.224	0.063	1.085	0.032	1.782	0.034	1.437	0.132	1.909	0.091	2.083	0.091
	15	1.215	0.045	1.315	0.07	1.729	0.056	1.017	0.059	0.905	0.029	1.558	0.028	1.046	0.078	1.697	0.096	1.664	0.098
	16	1.024	0.039	1.148	0.063	1.599	0.06	0.925	0.061	0.768	0.022	1.317	0.028	0.918	0.088	1.479	0.077	1.608	0.114
	17	0.856	0.037	0.938	0.052	1.411	0.055	0.774	0.053	0.659	0.021	1.15	0.023	0.677	0.057	1.237	0.053	1.429	0.118
	18	0.732	0.031	0.845	0.046	1.293	0.054	0.658	0.051	0.566	0.018	0.968	0.02	0.559	0.04	1.131	0.066	1.302	0.105
HD	1	10.585	0.957	4.55	0.453	5.739	0.392	6.801	0.664	2.394	0.139	10.769	0.51	7.99	2.232	2.217	0.423	6.852	0.72
	2	10.797	0.738	6.597	0.239	11.162	0.298	8.888	0.489	9.429	0.195	17.757	0.287	6.954	1.319	2.91	0.298	8.052	0.305
	3	9.681	0.566	7.992	0.283	10.433	0.365	10.086	0.36	14.557	0.286	15.205	0.335	6.281	0.877	3.888	0.352	7.36	0.339
	4	7.447	0.496	8.271	0.358	9.4	0.305	11.109	0.449	14.457	0.278	12.456	0.252	6.293	0.581	4.159	0.337	6.84	0.292
	5	6.146	0.258	8.322	0.293	9.582	0.285	11.485	0.596	12.433	0.304	10.48	0.173	12.227	2.107	4.901	0.38	8.129	0.294
	6	7.286	0.323	10.196	0.304	10.911	0.489	10.62	0.633	10.277	0.196	8.799	0.155	13.093	1.499	9.391	0.609	12.908	0.604
	7	8.196	0.573	10.954	0.411	10.017	0.469	8.407	0.436	8.354	0.155	7.039	0.136	14.982	1.498	21.805	1.29	16.031	1.109
	8	10.114	0.758	8.423	0.3	6.446	0.246	7.688	0.774	6.026	0.134	4.641	0.096	10.194	2.116	12.186	0.828	8.297	0.373
	9	3.814	0.17	5.132	0.171	4.458	0.116	4.477	0.194	4.17	0.104	2.979	0.059	3.676	0.276	4.898	0.335	3.984	0.146
	10	2.868	0.129	4.108	0.152	3.41	0.129	3.23	0.139	3.113	0.117	1.978	0.047	2.588	0.215	3.21	0.175	2.902	0.108
	11	2.556	0.13	3.436	0.146	2.763	0.095	2.842	0.145	2.482	0.085	1.734	0.031	2.162	0.206	2.484	0.123	2.249	0.07
	12	2.073	0.099	2.981	0.099	2.455	0.099	2.109	0.091	1.988	0.075	1.139	0.03	2.255	0.341	2.605	0.153	2.318	0.1
	13	1.977	0.106	2.564	0.071	2.065	0.073	1.75	0.083	1.652	0.053	0.905	0.023	1.928	0.236	3.187	0.205	2.144	0.097
	14	1.964	0.093	2.249	0.067	1.746	0.061	1.446	0.076	1.375	0.043	0.737	0.018	1.885	0.274	3.319	0.216	1.873	0.11
	15	1.712	0.089	1.944	0.065	1.387	0.048	1.184	0.062	1.112	0.033	0.611	0.015	1.24	0.159	2.687	0.141	1.488	0.075
	16	1.475	0.069	1.641	0.053	1.21	0.043	1.128	0.076	0.967	0.024	0.521	0.014	1.097	0.131	2.229	0.079	1.219	0.042
	17	1.146	0.057	1.386	0.045	1.052	0.036	0.923	0.068	0.845	0.025	0.423	0.011	0.796	0.119	1.64	0.076	1.041	0.033
	18	1.036	0.055	1.26	0.048	0.891	0.033	0.787	0.062	0.721	0.022	0.353	0.009	0.601	0.085	1.475	0.075	0.869	0.025
CI	1	20.927	1.942	6.8	0.813	3.256	0.213	9.114	0.799	2.97	0.255	2.928	0.201	9.609	1.383	3.565	0.93	2.152	0.281
	2	10.678	0.705	8.517	0.459	11.001	0.753	11.383	0.566	10.581	0.473	11.82	0.825	8.306	1.192	3.556	0.493	6.275	0.82
	3	8.325	0.474	9.024	0.296	10.973	0.627	12.147	0.417	16.095	0.279	12.958	0.78	8.29	0.787	4.396	0.402	6.497	0.788
	4	6.552	0.334	9.153	0.355	10.031	0.489	12.789	0.538	14.506	0.309	11.206	0.395	8.672	1	4.4	0.35	5.549	0.42
	5	5.908	0.318	8.971	0.315	10.353	0.6	13.093	0.726	12.728	0.309	10.76	0.194	10.633	1.465	5.43	0.432	7.352	0.312
	6	7.335	0.427	10.669	0.39	11.624	0.654	9.859	0.547	10.567	0.208	11.038	0.325	11.561	0.848	11.111	0.83	15.377	0.643
	7	7.698	0.545	11.472	0.521	10.635	0.676	7.291	0.371	8.749	0.181	10.079	0.448	15.784	1.646	25.2	1.518	20.993	1.388
	8	10.296	0.815	8.399	0.353	7.034	0.382	5.046	0.207	6.178	0.151	7.928	0.393	8.563	0.86	13.505	1.071	10.303	0.644
	9	3.552	0.187	5.018	0.152	5.406	0.242	3.544	0.131	4.199	0.092	5.351	0.278	3.755	0.244	5.545	0.402	4.642	0.28
	10	2.576	0.162	3.856	0.126	3.946	0.199	2.712	0.134	2.977	0.086	3.607	0.184	2.367	0.203	3.412	0.203	3.003	0.117
	11	2.108	0.156	3.145	0.143	2.808	0.141	2.208	0.127	2.289	0.065	2.451	0.121	1.89	0.192	2.422	0.151	2.402	0.09
	12	1.709	0.115	2.586	0.09	2.341	0.112	1.683	0.083	1.758	0.058	1.821	0.085	1.825	0.32	2.219	0.128	2.272	0.092
	13	1.496	0.114	2.116	0.069	1.843	0.08	1.447	0.082	1.417	0.041	1.357	0.064	1.44	0.141	2.134	0.091	2.095	0.099
	14	1.334	0.091	1.768															

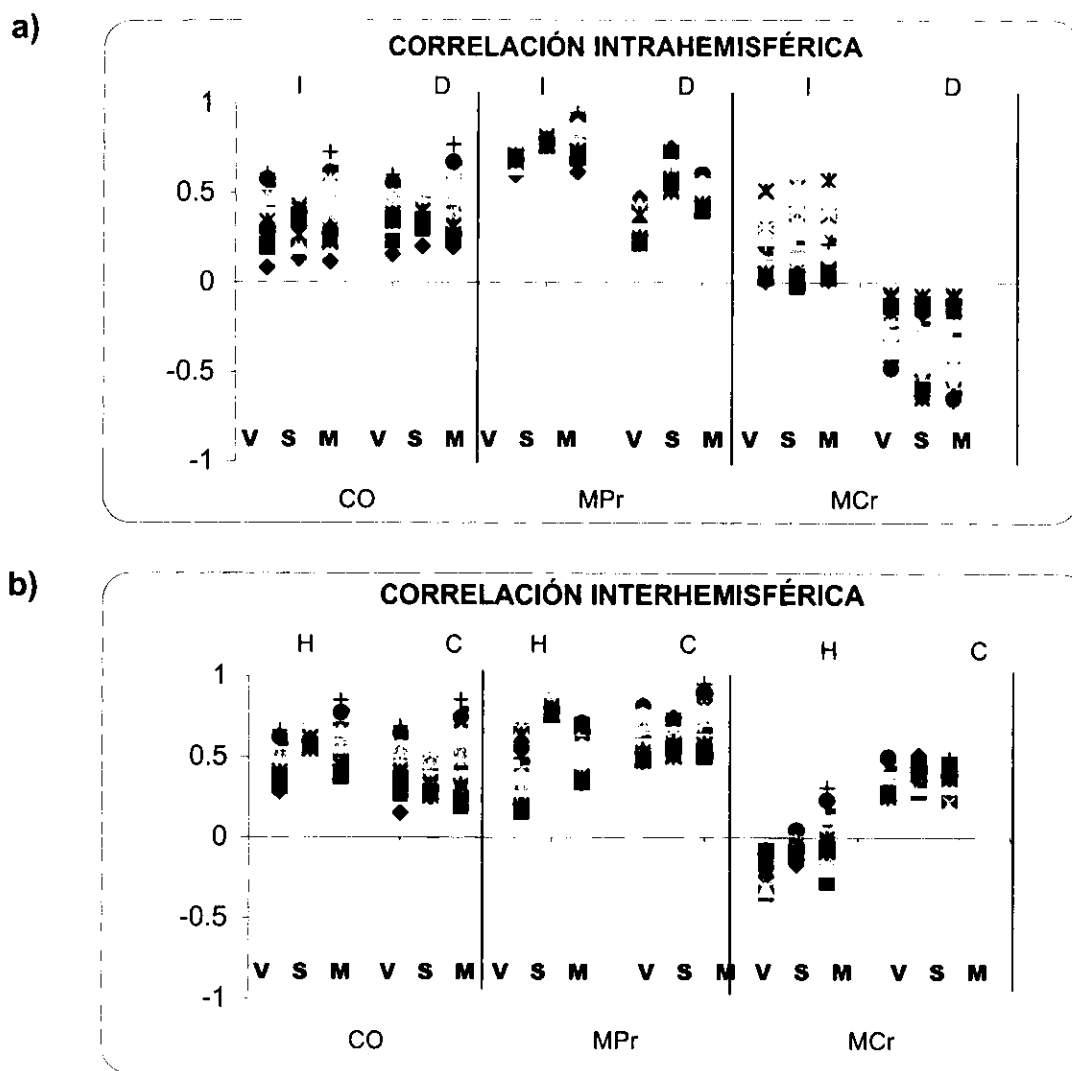
Análisis de la Correlación del ECoG Hipocámpica y Cortical

Como fue mencionado anteriormente, el coeficiente de correlación es una medida de la relación entre dos variables. El valor de este coeficiente varía desde +1 hasta -1 pasando por 0, e indica la intensidad de la relación y proporciona información acerca del sentido de ésta, esto es, una correlación con un coeficiente negativo por ejemplo, -0.89, tiene el mismo valor que una de coeficiente positivo +0.89. En ese sentido, si el índice de correlación entre dos variables es positivo, al aumentar una de ellas, también lo hace la otra. Otras variables, por el contrario, están relacionadas en sentido inverso, es decir, a medida que aumenta una de ellas, la otra disminuye. Finalmente, un coeficiente de correlación igual o superior a 0.80, se considera alto; uno de 0.5 es moderado, y uno igual o menor a 0.3 se considera pequeño, aunque depende la situación y el fin con el cual se utiliza para determinar cuales valores del coeficiente deben ser considerados (la transformación a valores z , se realiza como una normalización de los datos de la población).

En la Fig. 22 se ilustra la distribución de la correlación (dispersión) para todas las frecuencias estudiadas (1-32 Hz) en los tres estados de vigilia (VIG, SOL y SMOR), en el eje Y se graficó el índice de correlación intra e interhemisférica para los grupos Co, MPr y MCr, permitiendo observar de manera gráfica y condensada los efectos diferenciales de la malnutrición hipoproteínica, prenatal o crónica.

Se puede observar que el patrón de dispersión que presentan los controles en la correlación intrahemisférica (Fig. 22a) es distinto al de los grupos experimentales. Mientras en los controles existe una dispersión desde 0.2 hasta 0.60 del índice de correlación en los tres estados en ambos hemisferios, en el MPr se presentan mayores índices de correlación en el hemisferio izquierdo que en el derecho, en los tres estados de vigilia. Por otro lado, el grupo con malnutrición crónica presenta la dispersión de los índices de correlación de las frecuencias de 1-32 Hz en el hemisferio izquierdo desde 0 hasta más del 50% mientras que el hemisferio derecho presenta índices con valores negativos en todos los estados de vigilia.

DISPERSION DE FRECUENCIAS



V=vigilia, S=sueño de ondas lentas, M=sueño MOR, I=hemisferio izquierdo, D=hemisferio derecho, H= hipocampo, C= corteza, CO= control, MPr=malnutrido prenatal, MCr=malnutrido crónico.

Fig. 22. Se muestra el rango de dispersión de la correlación intra (a) e interhemisférica (b) de las frecuencias del ECoG de los grupos control, y malnutridos crónico y prenatalmente, durante los estados de vigilia, sueño de ondas lentas y sueño MOR. Eje de las ordenadas= coeficiente de correlación, abscisas= estados de vigilancia. Nótese, la dispersión en el grupo malnutrido crónico presentó valores negativos en ambas correlaciones (n= 10 sujetos por grupo).

En la Fig. 22b se grafica la dispersión de los índices de correlación interhemisférica de las frecuencias 1-32 Hz en los tres estados de vigilancia (VIG, SOL y SMOR) en los tres grupos experimentales.

En ambos hipocampos del grupo control la dispersión de los índices de correlación más altos se presentan en el SOL y el SMOR, mientras que en las cortezas la dispersión es más amplia y siempre en valores positivos.

El grupo MPr, se observó en ambos hipocampos que los índices de correlación durante el SOL se concentraron en valores más altos que en la VIG y el SMOR. Mientras que las cortezas en los tres estados presentaron una dispersión similar entre sí, en valores positivos. En tanto que en los hipocampos del grupo MCr se presentó una distribución de los índices de correlación en valores negativos cercanos a -0.50, en tanto, en las cortezas la dispersión de los índices se observa en valores positivos pero bajos, menores a 0.50 en los tres estados de vigilancia.

Análisis por grupo. Los índices de la correlación intra e interhemisférica de la actividad eléctrica cerebral (1-25 Hz) fueron transformados a valores z de Fisher y se compararon los grupos Co, MPr y MCr en los estados de vigilia, sueño de ondas lentas y sueño MOR. Cuando se compararon los hemisferios derecho e izquierdo de los animales controles, únicamente se encontraron diferencias significativas ($p < 0.001$) en las frecuencias de 1-6 Hz durante el SOL y 4 y 6 Hz durante el SMOR (ver Fig. 23). Las ratas con malnutrición hipoproteínica prenatal mostraron diferencias significativas en cuanto al coeficiente de correlación intrahemisférica (hipocampo vs. corteza) en casi todas las frecuencias del ECoG durante cada uno de los estados cuando fueron comparados ambos hemisferios. Mientras tanto, en las ratas malnutridas durante la gestación y su periodo posnatal, los hemisferios derecho e izquierdo se comportaron de modo totalmente contrario, mientras el derecho presentó valores z negativos en todas las frecuencias estudiadas, en el hemisferio izquierdo se presentaron valores positivos (ver Fig. 23).

CORRELACIÓN INTRAHEMISFÉRICA

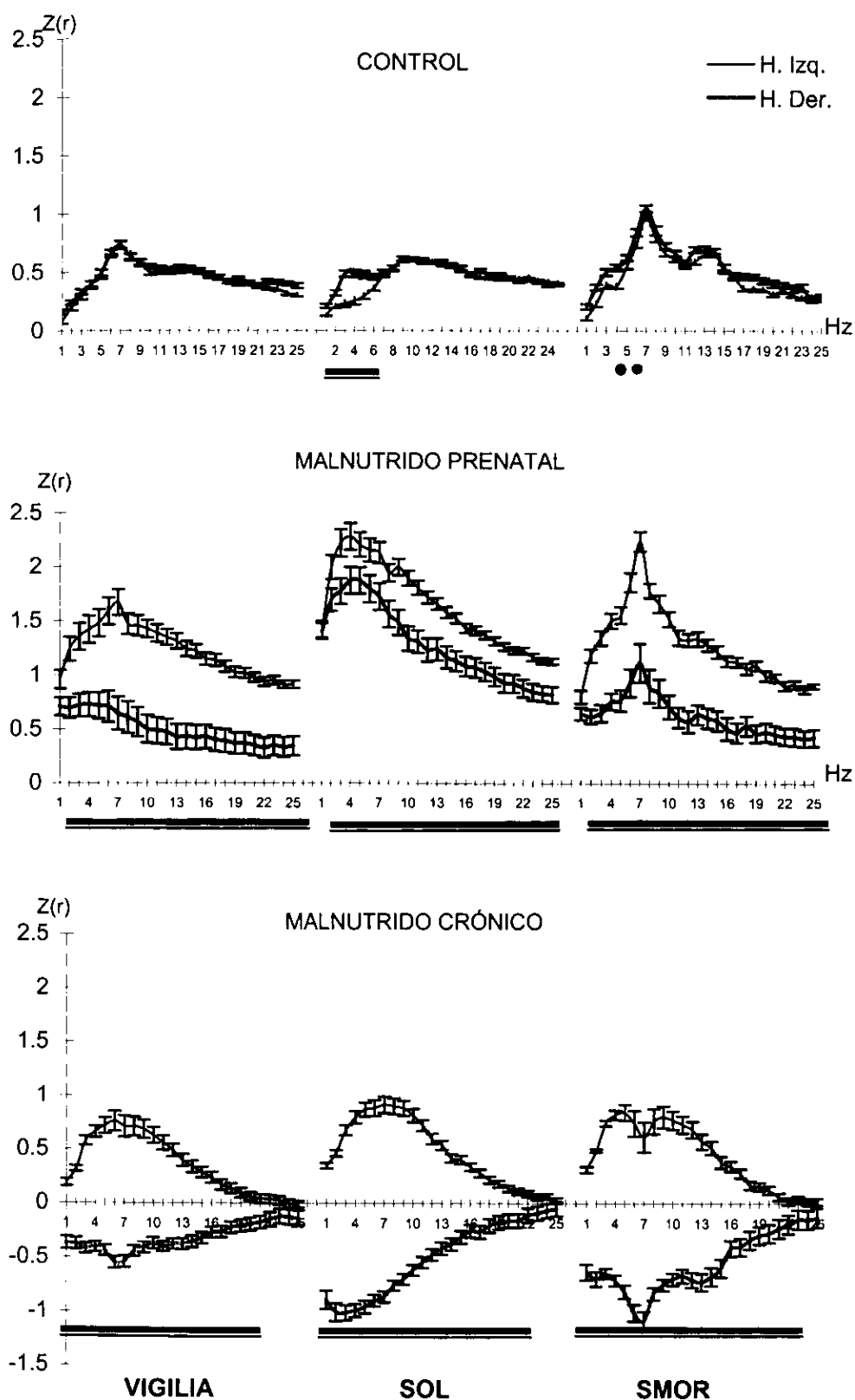


Fig. 23. Se muestra la correlación intrahemisférica (en valores z_r) de los tres estados de vigilia, en las frecuencias del ECoG 1-25 Hz correspondientes a los grupos Co (control), MPr (malnutrido prenatal) y MCr (malnutrido crónico).

▬ Con significancia estadística $p < 0.001$

Se realizó un análisis de la correlación interhemisférica entre las formaciones hipocámpicas de cada hemisferio así como de la corteza occipital también de cada hemisferio. Cuando se compararon estadísticamente los valores z obtenidos de los coeficientes de correlación para ambas formaciones hipocámpicas y ambas cortezas, en los tres grupos estudiados y en los estados de vigilia, SOL y SMOR, se observó que los tres grupos presentaron un comportamiento distinto, pero además, fue evidente que los grupos con malnutrición ya fuera prenatal o crónicamente mostraron diferencias estadísticas ($p < 0.001$) durante los tres estados de vigilancia y una morfología de la correlación diferente a la presentada por el grupo control, en el cual, únicamente se presentaron diferencias entre los hipocampos y las cortezas durante el SOL y las frecuencias más lentas de la VIG y el SMOR. En este grupo, la banda de frecuencias denominada theta, reveló coeficientes de correlación mayores a 0.8 en el SMOR, y de 0.6, durante la VIG. Sin embargo, durante el SMOR en los tres grupos se evidenció un aumento de la correlación en la frecuencia de 7 Hz, aunque el MCr presentó no sólo valores muy bajos sino inclusive, negativos (ver Fig. 24) por lo que se realizó una "normalización" a valores z para determinar si este comportamiento persistía.

En el grupo MPr cuando se compararon ambos hipocampos como una sola estructura y las cortezas occipitales de cada hemisferio como una sola (esto es, la correlación interhemisférica) tanto para la VIG como el SMOR se presentaron diferencias significativas a partir de la frecuencia de 4 Hz y hasta los 25 Hz, mientras que durante el SOL, únicamente la frecuencia de 3 Hz, no tuvo diferencias estadísticamente significativas (ver Fig. 24, Tabla IV). Además, el coeficiente de correlación (no el valor z) encontrado en la frecuencia de 7 Hz para la vigilia y el SMOR mostró un valor cercano a 1.0.

En el caso del grupo MCr, los tres estados de vigilancia, en casi todo el espectro de frecuencias (a excepción de las frecuencias de 6 y 8 Hz) mostró diferencias significativas en los valores z de la correlación interhemisférica, mostrando valores muy pequeños cercanos a cero en la correlación hipocámpica, casi todas las frecuencias en los tres estados, mostraron para este grupo un coeficiente de correlación menor a 0.5.

CORRELACIÓN INTERHEMISFÉRICA

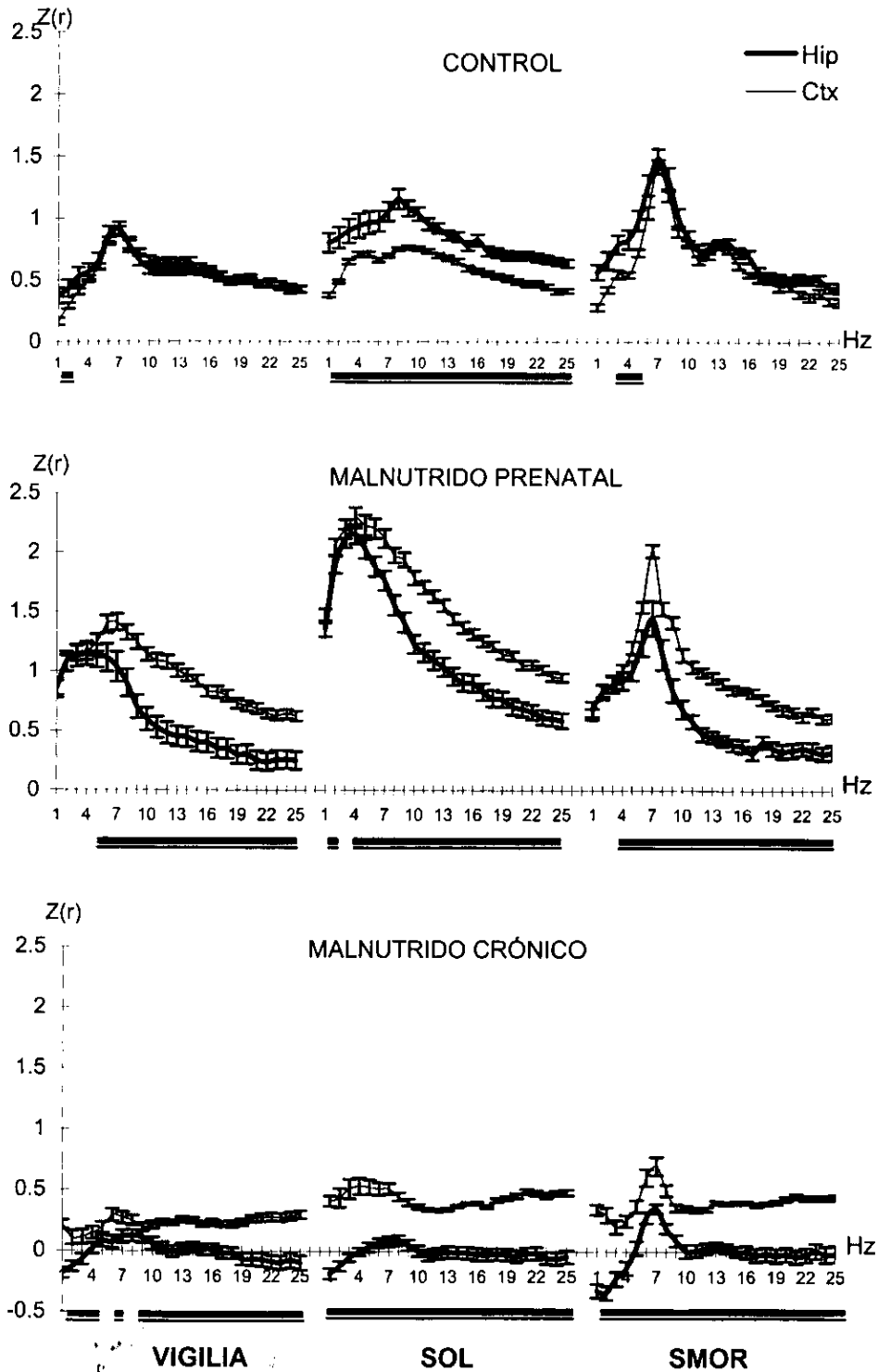


Fig. 24. Se muestra la correlación interhemisférica (en valores z_i) de los tres estados de vigilia, en las frecuencias del ECoG 1-25 Hz) correspondientes a los grupos Co (control), MPr (malnutrido prenatal) y MCr (malnutrido crónico).

— Con significancia estadística $p < 0.001$.

Comparación entre grupos. Se realizó la comparación estadística de los valores z del coeficiente de correlación obtenidos para los tres grupos en estudio, comparados entre sí y tomando en cuenta el estado del ciclo sueño-vigilia en el cual se encontraban.

Correlación Intrahemisférica

Vigilia. En el hemisferio izquierdo, el grupo MPr, presentó coeficientes de correlación mayores a 0.9, efecto que se mantuvo cuando los valores fueron transformados a valores z, aunque la morfología de la correlación fue muy similar a la observada en el grupo Co. Los tres grupos presentaron un valor z máximo en las frecuencias de 7 y 8 Hz. Por otro lado, en el hemisferio derecho, y como se puede observar en la Fig. 24, el grupo control, no presentó diferencias al compararse ambos hemisferios, sin embargo, el grupo MPr, presentó valores z mayores que el control en las frecuencias lentas (1-5 Hz) del espectro del ECoG, mientras que el MCr mantuvo valores z negativos para todas las frecuencias, siendo las comparaciones estadísticas entre este grupo y los otros diferentes significativamente ($p < 0.001$) (ver Fig. 25 y Tabla V).

SOL. Tanto en el hemisferio izquierdo, como en el derecho, el grupo MPr mantuvo valores z del coeficiente de correlación muy elevados, en sí mismo, el coeficiente, siempre se presentó por encima de 0.9 para todas las frecuencias del espectro. Mientras que el grupo MCr, sólo presentó valores negativos en las frecuencias registradas en el hemisferio derecho, en tanto que en el izquierdo, presentó valores z mayores que el control para las frecuencias 1-10 Hz. Estas diferencias dramáticas entre los grupos experimentales con el grupo control, indican que la malnutrición hipoproteínica ya sea prenatal o crónica afecta la dinámica o armonía entre las poblaciones neuronales provocando que ésta se disminuya, se pierda o bien se pierda su fase (ver Fig. 25 y Tabla V).

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

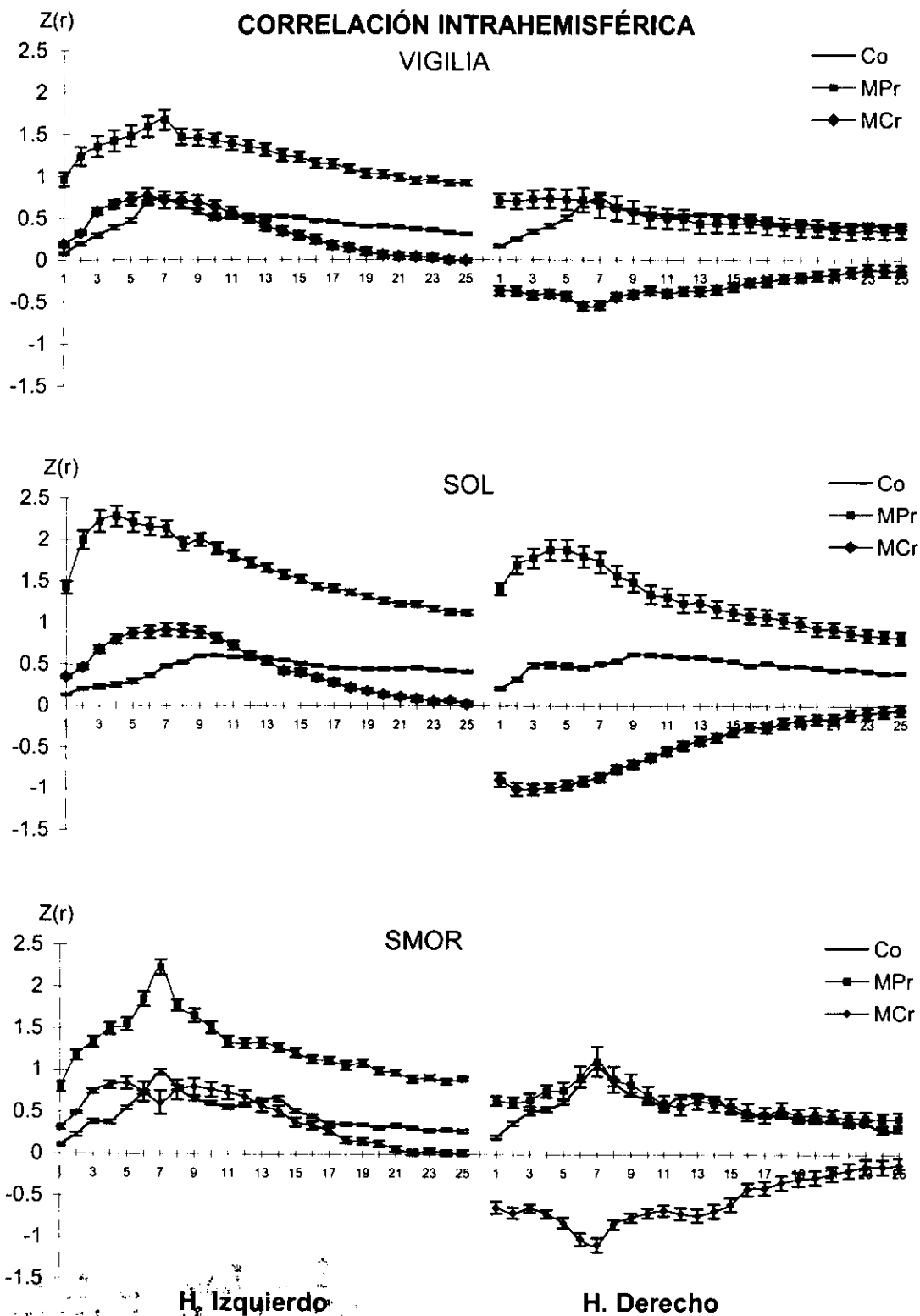


Fig. 25. Comparación de la correlación intrahemisférica entre los grupos Co, MPr y MCr, en los tres estados de vigilancia y en ambos hemisferios, derecho e izquierdo. Las diferencias significativas para estas comparaciones se pueden consultar en la Tabla V.

SMOR. Durante este estado, tanto el MPr como el Co presentan una morfología semejante en sus coeficientes de correlación (transformados a valores z) en ambos hemisferios. Sin embargo, los valores en el grupo MPr permanecieron elevados en todas las frecuencias analizadas. Mientras que el grupo MCr en el hemisferio izquierdo, disminuyó su valor de correlación específicamente en la frecuencia de 7Hz. En tanto, este mismo grupo, en el hemisferio derecho presentó valores muy similares a los encontrados para los grupos Co y MPr, sólo que éstos fueron negativos (los coeficientes de correlación para este grupo se mantuvieron en un promedio de -0.85) (ver Fig. 25 y Tabla V).

Correlación Interhemisférica

Vigilia. El análisis de la correlación interhemisférica hipocámpica reveló que el grupo MPr presentó un aumento en los valores z del coeficiente r para las frecuencias 1-5 Hz, en tanto el MCr presentó coeficientes cercanos a cero, pero en casi todas las frecuencias, éstos fueron negativos. Por otro lado, la correlación cortical, a pesar que en los tres grupos se mantuvo una morfología similar, aumentado o disminuyendo en las mismas frecuencias, los valores del grupo MPr siempre fueron muy elevados, mientras los MCr presentaron valores inferiores a los del grupo Co (ver Fig. 26 y tabla VI).

SOL. La correlación interhemisférica hipocámpica analizada durante este estado reveló nuevamente que el grupo MPr presentó un aumento significativo de los valores z y los coeficientes de correlación, principalmente en las frecuencias de 1-9 Hz. El grupo malnutrido crónico, por otro lado, presentó coeficientes de correlación en casi todas las frecuencias negativos, y muy cercanos a cero.

El comportamiento de la correlación interhemisférica cortical en los animales malnutridos durante el periodo prenatal mostró coeficientes de 0.98 a 1 y valores z también mayores a los presentados por el grupo Co. En este caso, los valores z en el grupo MCr se mostraron muy similares a los del Co, y sólo se vieron disminuidos (aunque no fueron negativos), para las frecuencias de 8-17 Hz (algunas de estas frecuencias también involucran la banda del ritmo theta).

SMOR. Finalmente, la correlación interhemisférica hipocámpica en este estado, no mostró diferencias significativas en las frecuencias de la denominada banda theta (4-12 Hz) entre el grupo MPr y el Co, lo cual pudiera indicar que la función que puede estar desempeñando el hipocampo en este estado conductual puede no estar alterada dramáticamente. El grupo MCr presentó valores z muy por debajo a los observados en los otros grupos en estudio. Mientras tanto, la correlación cortical, mantuvo para los tres grupos una morfología similar, aunque se continuaron presentando valores elevados en los MPr y disminuidos en los MCr (ver Fig. 26 y Tabla VI).

Como puede observarse, la correlación hipocámpica en los tres estados analizados se presenta muy alterada en ambos grupos con malnutrición, principalmente en las frecuencias que conforman la banda tradicional del ritmo theta.

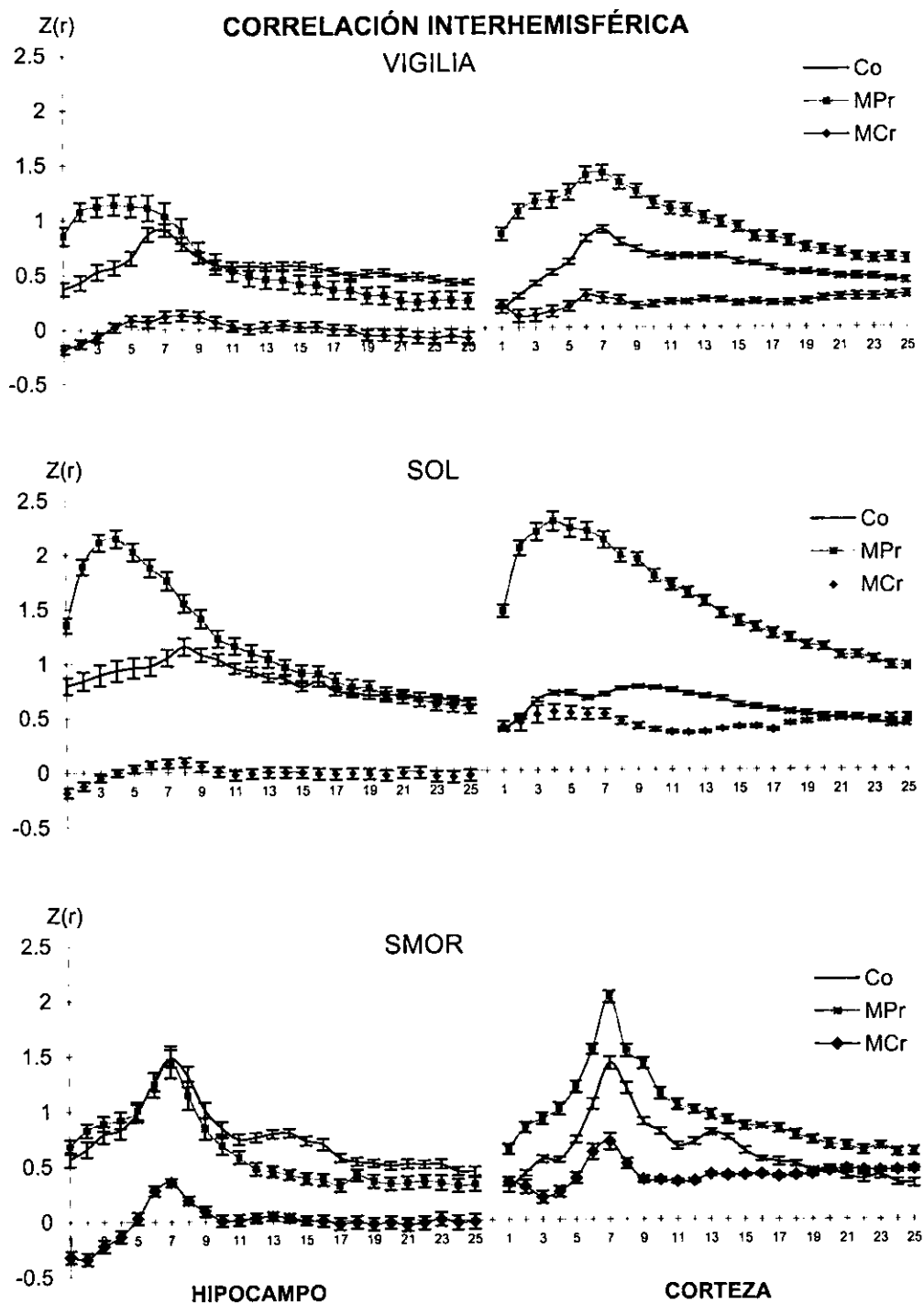


Fig. 26. Comparación de la correlación interhemisférica entre los grupos Co, MPr y MCr, en los tres estados de vigiliacia y en ambos hemisferios, derecho e izquierdo. Las diferencias significativas para estas comparaciones se pueden consultar en la tabla IV.

TABLA V
Correlación Intrahemisférica
Análisis estadístico

HEMISFERIO IZQUIERDO

Hz	VIGILIA		SOL		SMOR	
	Co vs. MPT	Co vs. MC	Co vs. MPT	Co vs. MC	Co vs. MPT	Co vs. MC
1	S	S	S	S	S	S
2	S	S	S	S	S	S
3	S	S	S	S	S	S
4	S	S	S	S	S	S
5	S	S	S	S	S	S
6	S	S	S	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S
8	S	S	S	S	S	S
9	S	S	S	S	S	S
10	S	S	S	S	S	S
11	S	S	S	S	S	S
12	S	S	S	S	S	S
13	S	S	S	S	S	S
14	S	S	S	S	S	S
15	S	S	S	S	S	S
16	S	S	S	S	S	S
17	S	S	S	S	S	S
18	S	S	S	S	S	S
19	S	S	S	S	S	S
20	S	S	S	S	S	S
21	S	S	S	S	S	S
22	S	S	S	S	S	S
23	S	S	S	S	S	S
24	S	S	S	S	S	S
25	S	S	S	S	S	S

HEMISFERIO DERECHO

Hz	VIGILIA		SOL		SMOR	
	Co vs. MPT	Co vs. MC	Co vs. MPT	Co vs. MC	Co vs. MPT	Co vs. MC
1	S	S	S	S	S	S
2	S	S	S	S	S	S
3	S	S	S	S	S	S
4	S	S	S	S	S	S
5	S	S	S	S	S	S
6	S	S	S	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S
8	S	S	S	S	S	S
9	S	S	S	S	S	S
10	S	S	S	S	S	S
11	S	S	S	S	S	S
12	S	S	S	S	S	S
13	S	S	S	S	S	S
14	S	S	S	S	S	S
15	S	S	S	S	S	S
16	S	S	S	S	S	S
17	S	S	S	S	S	S
18	S	S	S	S	S	S
19	S	S	S	S	S	S
20	S	S	S	S	S	S
21	S	S	S	S	S	S
22	S	S	S	S	S	S
23	S	S	S	S	S	S
24	S	S	S	S	S	S
25	S	S	S	S	S	S

Análisis de varianza de dos factores $p < 0.001$
 prueba de Tukey post hoc 5%

TABLA VI

CORRELACIÓN INTERHEMISFÉRICA
Análisis estadístico

Hz	FORMACIÓN HIPOCÁMPICA						CORTEZA OCCIPITAL								
	VIGILIA			SOL			VIGILIA			SOL			SMOR		
	Co vs. MPr	Co vs. MCr	MPt vs. MCr	Co vs. MPr	Co vs. MCr	MPt vs. MCr	Co vs. MPr	Co vs. MCr	MPt vs. MCr	Co vs. MPr	Co vs. MCr	MPt vs. MCr	Co vs. MPr	Co vs. MCr	MPt vs. MCr
1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
9	---	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	---	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	---	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
12	---	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
13	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
16	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
17	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
20	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
23	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
24	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
25	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Análisis de varianza de dos factores p < 0.001
prueba de Tukey post hoc 5%

SUMARIO DE RESULTADOS

En el Grupo Control:

Análisis en los puntos de los cambios de luz.

La corteza izquierda presenta mayor potencia tanto absoluta como relativa. El coeficiente de correlación es alto en la banda theta (6-10 Hz).

El hipocampo izquierdo tiene mayor potencia (absoluta y relativa). El coeficiente de correlación es alto en las frecuencias de 7-9 Hz.

Hemisferio izquierdo con mayor potencia espectral, la correlación cercana a 1.0 en las frecuencias de 1-7 Hz. El Hemisferio derecho presenta mayor variabilidad.

ANÁLISIS EPECTRAL DE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA	POR BANDAS TRADICIONALES:	POR FRECUENCIAS (1-32Hz):
	Predomina delta para SOL y VIG. Theta durante SMOR. Presencia de actividad rápida en los 3 estados.	Pico de 7 Hz durante SMOR. Pico de 2 y 8 Hz durante VIG

Comparación de los Estados de Vigilancia vs. Bandas de Frecuencia.

Actividad delta y SOL con distribución temporal circadiana similar.

Actividad rápida y VIG no presentan similitudes.

Actividad theta correlaciona mejor con SMOR y VIG.

Malnutrición prenatal	Malnutrición crónica	Efecto sobre:
Retraso de fase del SOL y avance en VIG y SMOR.	Retraso de fase del SOL y avance en VIG y SMOR	Estados de Vigilancia
Se pierde	Se pierde	Ritmo circádico de EV
Disminuye	Aumenta	Potencia Relativa
Se pierde	Se pierde	Vigilia pico en 2 Hz
Se retrasa (7Hz)	Se retrasa (6Hz)	Vigilia pico en 8 Hz
Se mantiene pero aumenta amplitud	Se mantiene pero aumenta amplitud	Pico en SMOR (7Hz)
Aumenta en ambos hemisferios	Disminuye en el H.I., pero se vuelve negativa en el H.D.	Correlación Intrahemisférica en los EV
Similar al Co.	Se altera en los hipocampos	Correlación interhemisférica en los EV
	Se afecta gravemente el hipocampo derecho.	Actividad Eléctrica

DISCUSIÓN

En el presente estudio se realizó el análisis de la potencia de la actividad eléctrica presentada en cada uno de los estados del ciclo sueño-vigilia, sí como la correlación intra e interhemisférica de la actividad cortical e hipocámpica en la rata de 30 días de edad, sometida a malnutrición hipoproteínica crónica y sólo prenatal.

Se ha observado que la malnutrición proteínica pre y posnatal produce una reducción significativa en el peso y tamaño corporal de la rata (Forbes y cols., 1977a, b; Resnick y cols., 1982; Durán, 1993; Durán, 1995). Sin embargo, en ratas con malnutrición proteínica prenatal se observan talla y peso corporal similares a los animales controles (Durán, 1995; Cintra y cols., 1997). Pero, de acuerdo a este y otros estudios anteriores (Durán, 1995; Granados, 1995; Cintra y cols., 1997), es claro que la malnutrición prenatal produce alteraciones en el sustrato neuroanatómico y algunas respuestas fisiológicas como el ciclo de sueño -vigilia y la actividad eléctrica neuronal.

La actividad eléctrica cerebral, analizada mediante su potencia espectral, de la rata de 30 días de edad presenta un comportamiento circadiano similar al reportado en el adulto. Además, la correlación intra e interhemisférica tanto de la actividad eléctrica cortical como de la formación hipocámpica mostró un claro acoplamiento en los patrones de frecuencia y fase (armonía) y tiene una oscilación circádica. Sin embargo, en las horas previas al cambio del ciclo luz/oscuridad, tanto la actividad registrada en la corteza como en la FH cambian de comportamiento en los diferentes hemisferios, sugiriendo una función diferente en cada uno de ellos como respuesta al apagado o encendido de la luz, considerando además, que en esos momentos también se disminuyó el coeficiente de correlación. No existen datos en la literatura que nos permitan hacer inferencias en este sentido, sin embargo, se ha reportado que la correlación de la actividad eléctrica en la estructura dorso-ventral de ambos hipocampos depende del estado conductual de la rata macho adulta. La distribución de las frecuencias de la actividad eléctrica en ambos hemisferios es diferente, lo cual podría sugerir que la FH en la rata tiene diferentes funciones de acuerdo con el hemisferio en que se localiza (Chida y Toyosawa, 1994).

Los adelantos o retrasos de fase que se localizaron en los bloques cercanos a los cambios de luz, son hallazgos que apoyan la idea de que existen osciladores independientes que están regulando cada uno de los estados de vigilancia (Borbély, 1978). Estas son estructuras de generación prenatal o pre y posnatal como el NSQ, que comienza su generación en el último tercio de la gestación y se extiende hasta los 30 días de edad posnatal en la rata (Rodier, 1980; Moore, 1991).

En el presente estudio así como en experimentos previos, encontramos que la gran mayoría de las alteraciones producidas por la malnutrición en los estados de vigilancia y la actividad eléctrica cerebral se localizaron en los periodos de transición de los cambios de luz/oscuridad y oscuridad/luz (Durán, 1993, 1995). Estos hallazgos se han interpretado como que los animales malnutridos no son capaces de responder a las variaciones de luz/oscuridad, por lo que es probable que el mecanismo de control circadiano se encuentre afectado. En este sentido, se sabe que la malnutrición crónica o sólo prenatal 1) provoca una disminución en la amplitud y un retardo en la fase del ritmo de melatonina plasmática (Herbert y Reiter, 1981); 2) reducción tanto del número de neuronas (Cintra y cols., 1994) como en la inmunodetección de células VIPérgicas en el núcleo supraquiasmático (NSQ) (Aguilar-Roblero y cols., 1997) y 3) que un mayor número de neuronas en el área circundante al NSQ son responsivas a los pulsos de luz (Granados-Fuentes y cols., 1995). La malnutrición hipoproteínica en la rata produce una reducción de la síntesis de proteínas (Morgane y cols., 1993) originada por la reducción de aminoácidos esenciales (Yokogoshi y cols., 1992). Se ha demostrado que la malnutrición y la desnutrición producen modificaciones en los procesos de síntesis, liberación, modificación, degradación, recaptura y número de receptores de algunos neurotransmisores de origen peptídico (Morgane y cols., 1993; Mokler y cols., 1999). Por otro lado, las reducciones en la síntesis de proteínas en otros organismos provocan alteraciones en las oscilaciones circádicas, por ejemplo, una inhibición en la síntesis de proteínas produce tanto avances como retrasos en la fase circádica del ritmo de actividad locomotora en mamíferos (Takahasi y Turek, 1987; Inouye y cols., 1988; Zhang y cols., 1996). Dadas estas consideraciones, es muy probable que algunas de las alteraciones circádicas encontradas en nuestros animales malnutridos correspondan a deficiencias en los procesos metabólicos, en particular, los proteínicos que se llevan a cabo en las estructuras involucradas en la regulación del ritmo circadiano de la actividad eléctrica cerebral. Si existe una reducción de la síntesis de proteínas originada por la

reducción de aminoácidos esenciales, posiblemente existe una alteración del NSQ de los animales malnutridos que sea la que produzca en parte los cambios de fase que hemos encontrado, siendo ésta una disminución de la fuerza del acoplador entre los osciladores y una disminución de la fuerza de bloqueo de fase entre los osciladores y el ciclo luz-oscuridad, que también contribuye a producir dicho efecto (Aguilar-Roblero y cols., 1997).

En el presente estudio, en los animales normales, se observaron comportamientos circadianos muy similares entre el SOL y el ritmo delta y por otro lado, el sueño MOR, la Vigilia y el ritmo theta presentaron comportamientos similares a lo largo del ciclo luz/oscuridad, como ya se ha sugerido (Borbély y cols., 1983; Durán, 1993; Durán y cols., 1999). Estos resultados hacen suponer que existen dos sistemas, que responden de diferente manera al mismo oscilador, y se encuentran regulando los diferentes estados de vigilia, así como la actividad eléctrica cerebral. La malnutrición prenatal altera el comportamiento temporal y dinámico del ciclo sueño-vigilia y las bandas de frecuencia de los ritmos delta, theta y actividad rápida en la rata de 30 días de edad. Los resultados obtenidos hacen suponer que no solo los estados de vigilia sino la actividad eléctrica y más aún, aquellas estructuras involucradas en su generación, se afectan de manera diferencial dependiendo del tipo y severidad de la malnutrición a la cual se haya sometido el organismo.

Es evidente que la malnutrición produce retrasos en la manifestación fisiológica de los estados de vigilia. Se ha reportado que a mayor inmadurez del animal (en particular, en la rata) la actividad eléctrica cerebral se manifiesta con mayor cantidad de sueño (Gramsbergen, 1976; Salas y Cintra, 1975; Cintra y cols., 1988; Durán, 1993, 1995; Durán y cols., 1999). A pesar de que los animales malnutridos durante el periodo prenatal alcanzan el peso y la talla normales y que la distribución de los estados de vigilia en el ciclo de sueño-vigilia es aparentemente normal en la edad estudiada, el análisis espectral de la potencia de la actividad eléctrica cortical y subcortical se encuentran afectados fuertemente lo que nos permite suponer que sus mecanismos de regulación (alterados durante el periodo prenatal), no se ajustan a los parámetros normales y los daños producidos por la malnutrición sólo se amortiguan de manera parcial (Durán, 1995; Durán y cols., 1999).

Para determinar las variables que se considerarían en el presente estudio y tomando en cuenta que en la rata juvenil no se han descrito a fondo las características espectrales de la actividad eléctrica cerebral, fue necesario realizar el análisis espectral de las bandas de frecuencia de ésta durante cada uno de los estados del ciclo sueño-vigilia. Cada EV se comparó con su banda característica, de estos análisis se demostró que las bandas de frecuencia no corresponden fielmente al estado que las presenta, sino a una variedad de frecuencias dependientes del mismo.

También se realizó un análisis por frecuencias (Hertz por Hertz) en cada EV y se observó que en los estados de activación cerebral (vigilia y SMOR), se presentó un pico dentro de la llamada banda theta, el cual fue diferente para cada estado. En VIG, se presentó en la frecuencia de 8 Hz, con una potencia relativa del 12%, mientras que durante el SMOR, el pico se situó en la frecuencia de 7 Hz con una potencia relativa del 27%.

Otro análisis llevado a cabo fue el estadístico de componentes principales, que permitió determinar las relaciones directa o inversamente proporcionales entre las frecuencias registradas en el hipocampo y la corteza. Este tipo de análisis podría apoyar los estudios de los ritmos involucrados y sus núcleos generadores, así como el papel que juegan en la regulación del ciclo sueño-vigilia en la rata juvenil.

En este primer abordamiento se observó que en la rata joven normal, existe una relación entre los estados de vigilancia y la distribución específica de la actividad eléctrica en el rango de frecuencias estudiado (1-32Hz). De acuerdo con nuestros resultados, es claro que la banda theta tradicional, está compuesta en la VIG por dos bandas 3-8 y 7-10 Hz (obtenidos con el ACP) frecuencias similares a las reportadas por otros autores en animales adultos (Borbély, 1997; Bronzino, y cols., 1987). Sin embargo, en SMOR solamente se definió por ACP una banda que abarcó de 7 a 17 Hz, incluyendo la tradicional banda del ritmo theta, pero marcando frecuencias que deben permanecer disminuídas como requisito para que se presente este estado en particular. Los resultados obtenidos nos permiten suponer que en el SNC existen sustratos neuro-anatomo-fisiológicos distintos, que regulan independientemente cada uno de los EV, que deben mantenerse en armonía o correspondencia entre sí y que por otro lado, pudieran estar utilizando las mismas redes neuronales en la integración funcional.

La malnutrición prenatal y crónica afectan este arreglo armónico y funcional de los EV, principalmente durante la vigilia y el SMOR. Ambos grupos, a diferencia del Co, sitúan un pico en la frecuencia de 7 Hz en los estados antes mencionados. El SOL, en los grupos malnutridos presenta un pico máximo de potencia relativa en los 3Hz, en tanto en el control se ubica en los 2 Hz. El grupo malnutrido crónico presenta dos picos máximos durante el estado de vigilia a similitud del control, sin embargo, aunque el primer pico se localiza en los 2 Hz, al igual que el control, el pico correspondiente a las frecuencias de la banda theta, se localiza en los 6 Hz, este es un indicador importante del retraso en la maduración del SNC (Alföldi y cols., 1990; Bronzino y cols., 1987). Además la potencia relativa de las frecuencias del SOL se encontró aumentada con respecto al control lo cual indicaría un retraso en la maduración de los mecanismos de regulación y control de la actividad neuronal en cada uno de los estados de vigilancia, o bien, que las alteraciones producidas por la malnutrición están afectando definitivamente la red neuronal implicada en tales mecanismos. Por otro lado, tanto el pico como la potencia registrada durante el SMOR no presentó en el grupo con malnutrición crónica, diferencias significativas con el grupo control. En lo que respecta a la correlación intrahemisférica, entre el hipocampo y la corteza cerebral, en el grupo control se observó que la mayor correlación entre ambas estructuras se presentó en las frecuencias correspondientes a la banda theta. Sin embargo, el grupo malnutrido crónico presentó un coeficiente de correlación bajo en la actividad de sus hipocampos con respecto a sus cortezas, comportándose como estructuras que, al menos en las frecuencias estudiadas no presentan una correcta dinámica o armonía. El grupo con malnutrición prenatal presentó en la mayoría de sus frecuencias un índice de correlación de más de 0.65, aunque en las frecuencias de la banda theta (4-12 Hz) se presentó cercana a 1 (a partir de 0.75 se considera correlación alta).

Ambos comportamientos, de los MCr y los MPr, son diferentes al del grupo control, demostrando que tanto los mecanismos de regulación como de dinámica entre las estructuras del mismo hemisferio se encuentran alterados. En el MCr, pareciera invertirse la correspondencia o dinámica, indicando tal vez una alteración en la fase de las frecuencias, mientras que en el MPr el comportamiento de los índices de correlación sugiere que la información que pasa entre ambas estructuras, hipocampo y corteza, se esta presentando de manera defectuosa, alterándose quizá la modulación de la transmisión neuronal con

respecto al estado conductual del animal (Winson y Abzug, 1978, Cauller y cols., 1985). Dicha modulación implicaría la acción de diversos neurotransmisores dentro del circuito GABAérgico en el hipocampo, o bien por una disminución en los receptores a algunos neurotransmisores, como la serotonina en el CA3, impidiendo que se lleve a cabo adecuadamente la función hipocámpica y su comunicación con la corteza cerebral (Mokler y cols., 1999; Bronzino y cols., 1999).

Por otro lado, en el análisis de Fourier de la actividad hipocámpica durante la vigilia y el SMOR se han reportado diferencias para la potencia, frecuencia, coherencia y fase de la ARL en el CA1 de la rata adulta; donde la potencia del ritmo theta es mayor durante SMOR y la fase es más amplia en SMOR que en VIG (Leung, 1984). Estos resultados previos nos permiten suponer que los 30 días de edad, la rata normal ya ha consolidado dichas diferencias, sin embargo, en los MCr la potencia de la VIG y el SMOR son prácticamente iguales, para lo cual existen dos posibles explicaciones: 1) que el SNC presente un retraso en la maduración funcional y 2) que definitivamente la malnutrición crónica afecta, al menos en el mediano plazo la función hipocámpica.

Las células piramidales del CA1 del hipocampo son uno de los generados del ritmo theta y forman parte del denominado circuito trisináptico del hipocampo. En estudios en los que se utilizaron dietas de 6% y 8% de caseína (Díaz-Cintra y cols., 1991; Cintra y cols., 1990, 1997a, b) se analizaron las células granulares del giro dentado y del CA1 del hipocampo con la técnica de Golgi, y se encontraron reducciones significativas en el tamaño celular, en la densidad de espinas dendríticas y en las ramificaciones dendríticas distales en hipocampos de ratas malnutridas de 30, 90 y 220 días de edad. Las reducciones en las dendritas y en las espinas sinápticas se encontraron principalmente en los dos tercios externos de la capa molecular, lugar en donde se realiza el primer relevo sináptico del circuito trisináptico del hipocampo, el cual se considera como un sustrato importante en los procesos de aprendizaje y memoria.

En otro estudio morfológico (Díaz-Cintra y cols., 1994) se utilizó una malnutrición prenatal inducida por dietas con 6% de caseína y una habilitación nutricional posnatal con una dieta normal y se analizaron las células piramidales del campo CA3. Se encontraron reducciones significativas en el

tamaño celular, en la longitud de las dendritas, así como en las ramificaciones de la dendrita apical en ratas malnutridas de 15 días, también se encontró una reducción significativa en la densidad de espinas sinápticas e incrementos significativos en el número de dendritas apicales de estos animales a los 90 y 220 días. Estos estudios también revelaron reducciones significativas en las dendritas basales en donde hacen sinapsis las fibras GABAérgicas y las fibras comisurales a los 15 y 220 días de edad lo cual podría contribuir a las deficiencias en la integridad funcional de CA3, dado que se ha sugerido que el CA3 juega un papel muy importante en la integración de la actividad intrínseca del hipocampo (Swanson y Cowan, 1977).

Al analizar las células piramidales del CA1 con técnicas morfométricas, después de la tinción de Golgi en animales malnutridos crónicos y sólo prenatalmente, se encontraron reducciones significativas en el soma a los 220 días, en la longitud de la dendrita apical a los 30 y 220 días, en el grosor del *stratum radiatum* y el *lacunosum moleculare* a los 30 y 220 días de edad. También se encontraron reducciones significativas en la densidad de las espinas sinápticas localizadas en el *stratum moleculare* a los 15, 30 y 220 días y en el segmento medial a los 90 y 220 días. Sin embargo, el número de espinas dendríticas del *stratum radiatum* presentaron un aumento significativo a los 30 días de edad (Cintra y cols., 1997a, b).

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

Las diferencias significativas encontradas en los tres estados de vigilancia, en los análisis de la potencia relativa del hipocampo y la corteza, en los grupos MCr y MPr, sugieren que la dinámica inter e intrahemisférica se encuentra afectada drásticamente tanto en su sustrato neuro-anatómico como en su expresión funcional principalmente en el hemisferio derecho.

Por otro lado, una observación interesante es que el animal malnutrido crónico a los 30 días de edad, presenta alteraciones importantes en la correlación intra e interhemisférica, principalmente en la

FH, dónde los valores de correlación, cercanos a cero o bien negativos, sugieren que esta estructura no presenta una dinámica o armonía adecuada con su contralateral ni con la corteza cerebral (tal vez por alteraciones en la fase de la señal). Por lo anterior, podría sugerirse que el circuito hipocámpico-cortical pudiera presentar daños en su configuración anatómica y fisiológica producidos por la malnutrición, manifestándose como alteraciones en la regulación de los mecanismos que controlan la desincronización cortical.

Se sabe que los principales sistemas moduladores que activan la desincronización cortical: 1) neuronas que liberan acetilcolina en el tálamo y que se localizan en dos núcleos de la unión mesopontina: el área peribraquial del núcleo TPP y el núcleo TLD. Las proyecciones colinérgicas a las áreas corticales provienen del núcleo basal localizado en la parte basal del diencefalo. 2) En la parte rostral del cerebro llegan proyecciones talámicas con propiedades activadoras y posiblemente glutamatérgicas. 3) Finalmente, las neuronas del *Locus coeruleus* que usan norepinefrina y que proyectan al tálamo (en menor proporción que el sistema colinérgico), pero inervan directamente la corteza cerebral. Otras células que contienen monoaminas son las neuronas histaminérgicas de la región tubero-infundibular del hipotálamo posterior que proyectan a algunos núcleos talámicos y a la corteza cerebral. Estos núcleos reguladores no contienen un solo tipo de neuronas, por ejemplo, neuronas que usan el neurotransmisor inhibitorio GABA coexisten con células colinérgicas en el núcleo basal, los núcleos TPP y TLD, y en estos núcleos algunas células colinérgicas muestran una co-localización con las de glutamato y colin-acetiltransferasa (Hobson y cols., 1975; Steriade, 1992; McCarley, 1994).

Los neurotransmisores que se liberan por los sistemas moduladores producen una excitabilidad incrementada y una reducción o supresión de los procesos inhibitorios duraderos en las células tálamo-corticales y corticales. Los sistemas colinérgicos en el tallo cerebral causan dos principales efectos en el tálamo: una excitación directa de las células tálamo-corticales y una desinhibición de las mismas, provocada por una inhibición a las neuronas GABAérgicas tálamo-reticulares (Steriade, 1992). Los estudios histológicos y anatómicos en diversas áreas cerebrales en donde la malnutrición, ya sea prenatal o crónica, produce alteraciones (Cintra y cols., 1982-1997), indican que si no en su totalidad si una buena parte de las estructuras cerebrales se encuentran dañadas por la malnutrición. Por ello podría

sugerirse que las alteraciones encontradas en la manifestación fisiológica de la actividad hipocámpica y cortical son producidas por daños a nivel de los mecanismos reguladores de la desincronización cortical.

Por otro lado, se ha sugerido que una función de la actividad rítmica lenta del hipocampo, o actividad theta pudiera ser la transferencia de información cortico-hipocámpica y el proceso de modificación de la circuitería neocortical por la salida hipocámpica se lleva a cabo de un modo discontinuo asociado con el ciclo de sueño-vigilia (Buzsáki, 1998). Es decir, durante la vigilia la información neocortical carga rápidamente el hipocampo, mientras que durante el SOL se estaría llevando a cabo la transferencia de representaciones almacenadas hacia áreas neocorticales, este proceso se generaría mediante modificaciones sinápticas en el circuito hipocámpico. El SOL representa la más alta actividad neuronal coherente en muchas estructuras del mesencéfalo (Moruzzi y Magoun, 1949). Así, la conectividad sináptica podría rutinariamente ser modificada por el sueño. El patrón más sincrónico en el sistema límbico es una ráfaga de ondas dentadas (ROD), la cual es predominante durante el sueño (Buzsáki, y cols., 1983). La sincronía poblacional de las células principales incrementa de 5 a 8 veces durante la ROD relativa a oscilaciones theta/gamma asociadas con la conducta de exploración atenta (Csicvari y cols., 1997). Más de 50 mil células piramidales en el eje CA3-CA1-subiculum-presubiculum-corteza entorrinal descargan dentro de una corta ventana de tiempo (40-150 mseg). Dada la actividad pre y postsináptica altamente coherente, una predicción formal de los modelos celulares conocidos de reglas sinápticas es que las ráfagas de ondas dentadas podrían ser un medio poderosamente endógeno para modificar la conectividad de las redes neuronales (Steward, 1976).

Se ha sugerido que los cambios eléctricos dependientes de la conducta en la formación hipocámpica (estados asociados a theta y las ondas dentadas) pudieran estar involucradas en un proceso de doble estado de almacenamiento de información. Las representaciones mnemónicas se almacenarían en la corteza entorrinal y en subconjuntos de las células piramidales del CA3 durante la actividad exploratoria theta, ahí la información se sostendría temporalmente y durante el sueño de ondas lentas, se efectuaría el reforzamiento o consolidación de tales representaciones (Buzsáki, 1998).

Como se ha mencionado, los efectos producidos por la malnutrición sobre la configuración neuroanatómica de la FH indican una reducción en la plasticidad sináptica de esta estructura. Se ha observado en la rata MPr que la densidad sináptica se encuentra reducida con respecto al control (Granados, 2000). En este estudio, se observan alteraciones en la correlación inter e intrahemisférica hipocámpica y del ECoG en la rata sometida a malnutrición crónica, de acuerdo con la interpretación de los índices de correlación, ambos hipocampos estarían comportándose como estructuras completamente independientes, en donde la dinámica se encuentra alterada. La dinámica y armonía intrahemisférica derecha, de acuerdo con los índices de correlación en el MCr también está afectada. Además, el aumento de la correlación en las diferentes frecuencias del circuito hipocámpico-cortical producido por la malnutrición prenatal puede deberse a un aumento en la densidad sináptica que promueve un efecto de falsa efectividad en la función hipocámpica e hipocámpico-cortical. Por otro lado, se sabe que el hipocampo de la rata neonata exhibe efectos de lateralidad, en el macho el hipocampo derecho presenta un mayor grosor y este patrón asimétrico se pierde conforme los animales alcanzan la edad adulta. Sin embargo, las hembras mantienen la asimetría hipocámpica a lo largo de la vida, pero el patrón varía con la edad. Estas diferencias de género sugieren que las hormonas juegan un papel crítico en el desarrollo del cerebro de los roedores (Geschwind y Galaburda, 1987).

Estos hallazgos nos permiten suponer que la conectividad sináptica en este grupo está siendo gravemente afectada por la malnutrición hipoproteínica, impidiendo que se generen las redes neuronales de comunicación y dinámica entre los hipocampos y sus cortezas respectivas. Si esto es cierto, ésta sería una explicación del porque los animales con malnutrición crónica presentan alteraciones conductuales importantes, principalmente en aquellas conductas relacionadas con la memoria espacial y el aprendizaje. Además, el hecho de que se vea más afectado, electrofisiológicamente, el hipocampo derecho, hace suponer que tiene una función distinta al izquierdo. De acuerdo con algunos experimentos conductuales (prevención pasiva) en los cuales se lesiona el hipocampo derecho, no existen efectos en la adquisición y consolidación de la memoria, sin embargo, si la lesión se localiza en el hipocampo izquierdo, se produce un efecto de amnesia (comunicación personal con el Dr. R. Prado). Esto sugiere que el hipocampo izquierdo es más importante para los procesos de adquisición del aprendizaje, por lo que el sistema tiende a proteger dicha estructura unilateral. Observaciones recientes

en colaboración con los grupos de Cintra y Prado, han mostrado que las ratas malnutridas crónicamente adultas adquieren el conocimiento (en experimentos de prevención activa), más el proceso de consolidación de la memoria no está presente. En nuestros resultados, como ya se ha mencionado, encontramos que el hipocampo derecho se encuentra fuertemente dañado por la malnutrición crónica, este hallazgo pudiera entonces, explicar las alteraciones encontradas a largo plazo en los procesos de memoria y aprendizaje.

Conclusiones

1. La actividad eléctrica cortical de la rata macho de 30 días de edad presenta una distribución temporal circadiana, con cambios en la potencia y la correlación principalmente en el hemisferio derecho y en los índices de correlación en la última hora de oscuridad y en la primera hora de luz.
2. A los 30 días de edad, en la rata, las funciones corticales e hipocámpicas aún no se encuentran maduras, aunque en este momento se establecen los mecanismos necesarios para la dinámica y armonía de la actividad eléctrica.
3. La malnutrición hipoproteínica afecta la integridad funcional de sistema nervioso. La malnutrición crónica afecta la comunicación y armonía de la actividad eléctrica en la formación hipocámpica de ambos hemisferios, así como la correspondencia de ésta con los circuitos corticales.
4. La malnutrición prenatal produce un aumento en la correlación hipocámpico-cortical de los estados de vigiliencia, en la mayoría de las frecuencias estudiadas (1-32Hz), sugiriendo que se afecta la integridad funcional en los circuitos hipocámpico-corticales.
5. La malnutrición hipoproteínica, ya sea crónica o sólo prenatal, retrasa el pico de frecuencia del ritmo theta, sugiriendo que se afecta la maduración del SNC y la función hipocámpica. Es probable que las alteraciones encontradas tanto en la potencia como en la correlación hipocámpica se deban a varios factores: la inmadurez del sistema, alteraciones anatómicas y neuroquímicas que fueron afectados durante los periodos críticos del desarrollo perinatal.
6. Finalmente, si las redes neuronales de comunicación y dinámica de la función cortico-hipocámpica están siendo gravemente afectadas por la malnutrición hipoproteínica, entonces, tal vez estos resultados ayuden a entender porque los animales con malnutrición hipoproteínica (crónica o prenatal) presentan alteraciones conductuales importantes, principalmente en aquellas conductas relacionadas con la memoria espacial y el aprendizaje.

Referencias

1. Afonso, D., Santana, C. y Rodríguez, M. Neonatal lateralization of behavior and brain dopaminergic asymmetry. *Brain Res Bull* 32(1):11-16, 1993.
2. Aguilar-Roblero, R., Salazar-Juárez, D., Rojas-Castañeda, J.C., Escobar, C. y Cintra, L. Organization of circadian rhythmicity and suprachiasmatic nuclei in malnourished rats. *Am J Physiol* 273 (42): R1321-R1331, 1997.
3. Albert, D.J. y Chew, G.L. The septal forebrain and the inhibitory modulation of attack and defense in the rat: A review. *Biobehav Neu Biol* 30, 357-388, 1980.
4. Alföldi, P., Tobler, I. y Borbély, A.A. Sleep regulation in rats during early development. *Am J Physiol* 258 (32): R634-R644, 1990.
5. Amaral, D.G. y Witter, M.P. The three dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neurosci* 31:579-591, 1989.
6. Amaral, D.G. y Witter M.P. Hippocampal formation. En: G. Paxinos (ED) *The rat Nervous System* (2da.ed) Academic Press pp 443-493, 1995.
7. Azzolin, I.R., Bernard, E.A., Trinidae, V.M.T., Gamallo, J.L.G. y Perry, M. Effects of protein malnutrition on glycoprotein, protein and lipid synthesis in the rat cerebellum during the period of brain growth spurt. *Ann Nutr Metab* 35:82-88, 1991.
8. Baghdoyan, H.A., Rodrigo-Angulo, M. L., McCarley, R.W. y Hobson, J. A. A neuroanatomical gradient in the pontine tegmentum for the cholinceptive induction of desynchronized sleep signs. *Brain Res* 414:245-261, 1987.
9. Barrett, D.E. y Frank, D.A. *The effects of undernutrition on children's behavior*. Gordon & Breach Science Pub, New York. pp. 107-147, 1987.
10. Bedi, K. S. Early-life undernutrition causes deficits in rat dentate gyrus granule cell number. *Experientia* 47: 1073-1074, 1991.
11. Bier, M.J., McCarley, R.W. REM-enhancing effects of the adrenergic antagonist idazoxan infused into the medial pontine reticular formation of the freely moving cat. *Brain Res* 634:333-338, 1994.
12. Bland, B.H., Andersen, P. y Ganes.T. Two generators of hippocampal theta activity in rabbits. *Brain Res* 94:199-218, 1975.
13. Borbély, A.A. Effects of light on sleep and activity rhythms. *Prog Neurobiol*, 10:1-31, 1978.
14. Borbély, A.A., Tobler, I. y Groos, G. Sleep homeostasis and the circadian sleep-wake rhythm. En: M. H. Chase y E. D. Weitzman (ED.), *Sleep Disorders: Basic and clinical research*. Spectrum Publications, New York, pp. 227-243, 1983.
15. Borbély, A.A., Tobler, I. y Hanagasioglu, M. Effect of sleep deprivation and EEG power spectra in the rat. *Behav Brain Res* 14: 171-182, 1984.
16. Borbély, A.A. The S-Deficiency Hypothesis of Depression and the Two-process Model of Sleep Regulation. *Pharmacopsychiat* 20: 23-29, 1987.
17. Borbély, A.A. y Achermann P. Concepts and models of sleep regulation: An overview. *J Sleep Res* 1:63, 1992.

18. Bremer, F. Cerveau "isolé" et physiologie du sommeil. *C R Soc Biol (Paris)* 118:1235-1241, 1935.
19. Bronzino, J.D., Siok, C.J., Austin, K., Austin-LaFrance, R. y Morgane P.J. Spectral analysis of the electroencephalogram in the developing rat. *Dev Brain Res* 35: 257-267. 1987.
20. Bronzino, J.D. Austin-LaFrance, R.J., Morgane, P.J. y Galler, J.R. Effects of prenatal protein malnutrition on kindling-induced alterations in dentate granule cell excitability: II Paired-pulse measures. *Exp Neurol* 112:216-223, 1991.
21. Bronzino, J.D. Austin-LaFrance, R.J., Morgane, P.J. y Galler, J.R. Diet-induced alterations in the ontogeny of long-term potentiation. *Hippocampus* 6:109-117, 1996.
22. Bronzino, J.D. Austin-LaFrance, R.J., Mokler, D. y Morgane, P.J. Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal long-term potentiation in freely moving rats. *Exp Neurol* 148:317-323, 1997.
23. Bronzino, J.D.; Blaise, J.H.; Mokler, D.J.; Galler, J.R.; Morgane, P.J. Modulation of paired-pulse responses in the dentate gyrus: effects of prenatal protein malnutrition. *Brain Res* 849(1-2): 45-57, 1999.
24. Buzsáki, G., Grastyán, E., Kellényi, L. y Czopf, J., Dynamic phase-shifts between theta generators in the rat hippocampus. *Acta Physiol Acad Sci Hung* 53:41-45, 1979.
25. Buzsáki, G., Leung, L.S. y Vanderwolf, C.H. Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat. *Brain Res Rev* 6:139-171, 1983.
26. Buzsáki, G. Hippocampal Sharp-waves: Their origin and significance. *Brain Res* 398: 242, 252, 1986.
27. Buzsáki, G. Memory consolidation during sleep: a neurophysiological perspective. *J Sleep Res* 7(1):17-23, 1998.
28. Cauller, L.J., Boulos, Z. y Goddard, G. Circadian rhythms in hippocampal responsiveness to perforant path stimulation and their relation to behavioral state. *Brain Res* 329:117-130, 1985.
29. Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Kemper, T. y Morgane P.J. Nucleus locus coeruleus: a morphometric Golgi study in rats at three age groups. *Brain Res* 247: 17-28, 1982.
30. Cintra, L. y Díaz-Cintra, S. Effects of protein malnutrition on raphe dorsal and Locus coeruleus nuclei and non-pyramidal cells in the visual cortex of the rat. *Rev Chil Nutr* 13(2):76-82, 1985.
31. Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A. y Morgane, P. Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol Estud Med Biol Méx* 36:3-17, 1988.
32. Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A., Kemper, T. y Morgane, P.J. Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in rats of three age groups. *Brain Res* 532: 271-277, 1990.
33. Cintra, L., Galván, A., Díaz-Cintra, S y Escobar, C. Protein malnutrition on suprachiasmatic nucleus cells in rats of three ages. *Bol Estud Med Biol Méx* 42:11-19, 1994.
34. Cintra, L., Aguilar, A., Granados, L., Galván, A., Kemper, T., De.Bassio, W., Galler, J., Morgane, P., Durán, P. y Díaz-Cintra, S. Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal CA1 pyramidal cells in rats of four age groups. *Hippocampus* 7:192-203, 1997a.
35. Cintra, L., Granados, L., Aguilar, A., Granados, L., Galván, A., Kemper, T., De.Bassio, W., Galler, J., Morgane, P., Durán, P. y Díaz-Cintra, S. Effects of prenatal protein malnutrition on mossy fibers of the hippocampal formation in rats of four age groups. *Hippocampus* 7:184-191, 1997b.

36. Cintra, L. y Durán, P. Análisis espectral de la actividad eléctrica cerebral de la rata neonata malnutrida sometida a privación de sueño MOR. En: Javier Velázquez Moctezuma (ED.) *Medicina del sueño: aspectos básicos y clínicos*. Soc Mexicana de Sueño-UAM, pp.181-212, 1997.
37. Cohen, N.J. y Eichenbaum, H. *Memory, Amnesia and the hippocampal system*. Caps. 4-7 MIT Press England, 1993.
38. Cook I.A. y Leuchter A.F. Synaptic dysfunction in Alzheimer's disease: clinical assessment using quantitative EEG. *Behav Brain Res* 78:1, 15-23, 1996.
39. Corsi Cabrera, M., Ramos, J. y Meneses, S. Effect of normal sleep and sleep deprivation on interhemispheric correlation during subsequent wakefulness in man. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 72(4): 305-311, 1989.
40. Corsi-Cabrera, M., Guevara, M.A., Arce, C. y Ramos, J. Inter and intrahemispheric EEG correlation as a function of sleep cycles. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 20:387-405, 1996.
41. Csicsvari, J., Hirase, H., Moore, K., Penttonen, M. y Buzsáki, G. Monosynaptic interactions between CA1 pyramidal cells in interneurons in the behaving rat. *Soc Neurosci Abstr* 23:483, 1997.
42. Curró Dossi, R., Paré D. y Steriade, M. Short-lasting nicotinic and long-lasting muscarinic depolarizing responses of thalamocortical neurons to stimulation of mesopontine cholinergic nuclei. *J Neurophysiol* 65:393-406, 1991.
43. Chase, H.P., Canosa, C.A., Dabiere, C.S., Welch N.N. y O'Brien, D. Postnatal undernutrition and human brain development. *J Ment Defic Res* 18:355-266, 1974.
44. Chida, Y. y Toyosawa, K. Laterality of theta waves recorded from the bilateral hippocampi in freely moving male rats. *J Vet Med Sci* 56(2):407-410, 1994.
45. Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P.J. The nucleus raphe dorsalis: a morphological Golgi study in rats of three age-groups. *Brain Res* 207: 1-16, 1981a.
46. Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J. The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: a morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Res* 221: 243-255, 1981b.
47. Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane P.J. The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: a morphometric Golgi study in rats at three age groups. *Brain Res* 304:243-253, 1984.
48. Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Ortega, A., Kemper, T y Morgane, P.J. Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex, in rats of the three age groups. *J Comp Neurol* 292:117-126, 1990.
49. Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Galván A., Aguilar, A., Kemper, T. y Morgane P.J. Effects of prenatal protein deprivation on the postnatal development of granule cell neurons in the fascia dentata. *J Comp Neurol* 310:356-364, 1991.
50. Díaz-Cintra, S., García-Ruiz, M., Corkidi, G. y Cintra, L. Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. *Brain Res* 662:117-126, 1994.
51. Dobbing, J. Vulnerable periods in developing brain. En: A. N. Davison y J. Dobbing (ED.), *Applied Neurochemistry*. Blackwell, Oxford, pp. 287-316, 1968.
52. Dobbing, J. y Sands, S. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev* 3(1): 79-83, 1979.

53. Dobbing, J. Undernutrition and the developing brain. En: W. Himwich (ED.), *Developmental Neurobiology*. CC Thomas, Springfield, pp. 241-261, 1970.
54. Dobbing, J. Vulnerable periods of brain development. En: *Lipids, Malnutrition and Developing Brain*. CIBA Foundation Symposium. Elsevier, Amsterdam. pp.9-29 1972.
55. Dobbing, J. Early nutrition and later achievement. *Proc Nutr Soc* 49: 103-118, 1990.
56. Durán, P. Privación de sueño MOR en ratas normales y malnutridas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, 1993.
57. Durán, P. Análisis de la actividad eléctrica cortical antes y después de la privación selectiva de SMOR en ratas normales y malnutridas. Tesis de Maestría. Proyecto de Maestría en Ciencias Fisiológicas, UACPyP-CCH, UNAM, 1995.
58. Durán, P., Galván, A., Granados, L., Aguilar-Roblero, R., and Cintra, L. Effects of protein malnutrition on the vigilance states and their circadian rhythms in 30-day-old rats submitted total sleep-deprivation. *Nutr Neurosci* 2:127-138, 1999.
59. Faradji, H., Cespuglio, R., Valatx, J-L. y Jouvet, M. Effets du Jeûne sur le phénomènes Phasiques du sommeil Paradoxal de la Souris. *Physiol Behav* 23:539-546, 1979.
60. Fletcher, D.J., Raz, J. y Fein, G. Intra-hemispheric alpha coherence decreases with increasing cognitive impairment in HIV patients. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 102:286-294, 1997.
61. Forbes, W.B., Tracy, C., Resnick, O. y Morgane, P.J. Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. *Brain Res Bull* 2(2): 131-135, 1977a.
62. Forbes, W.B., Tracy, C.A., Resnick, O. y Morgane P.J. Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Exp Neurol* 57:440-450, 1977b.
63. Fox, S. E. y Ranck, J.B. Localization and anatomical identification of theta and complex spike cells in dorsal hippocampal formation of rats. *Exp Neurol* 49:229-313, 1975.
64. Franken, P.; Tobler, I. y Borbély A.A. Sleep homeostasis in the rat: simulation of the time course of EEG slow-wave activity *Neurosci Lett* 130(2): 141-144 1991.
65. Gaarskjaer, F.B. The development of the dentate area and the hippocampal mossy fiber projection on the rat. *J Comp Neurol* 241:154-170, 1985.
66. Galván, A. "Efectos de la privación total de sueño en ratas con desnutrición proteínica crónica." Tesis de Maestría, UACPyP-CCH, UNAM, 1993
67. Galler, J.R., Ramsey, F., Forde, V., Salt, P. y Archer, E. The long term effects of early kwashiorkor compared with marasmus II. Intellectual performance. *J Ped Gastro Nur* 6:847-854, 1987a.
68. Galler, J.H., Ramsey, F., Salt, P. y Archer, E. The long term effects of early kwashiorkor compared with marasmus I. Physical growth and sexual maturation. *J Ped Gastro Nur* 6:841-846, 1987 b.
69. Galler, J.R., Ramsey, F., Salt, P. y Archer, E. The long term effects of early kwashiorkor compared with marasmus III. Physical growth and sexual maturation. *J Ped Gastro Nur* 6:855-859, 1987 c.
70. Galler, J. y Kanis, K.B. Animal models of malnutrition applied to brain research. En: *Current topics in nutrition and disease. Basic and clinical aspects of nutrition and brain development*. Alan R Liss, Inc, NY, pp. 57-73, 1987.

71. Galler, J.R., Ramsey, F.C., Morely, D.S., Archer, E. y Salt, P. The long-term effects of early kwashiorkor compared with marasmus. IV. Performance on the national high school entrance examination. *Ped Res* 28:235-239, 1990.
72. Galler, J.R. y Ross, R. Malnutrition and Mental Development, En: R. Suskind y L. Lewinter-Suskind (ED.) *Textbook of Pediatric Nutrition*, Raven Press, NY. pp 173-179, 1993.
73. Geshwind, N. y Galaburda, A.M. *Cerebral lateralization: Biological mechanisms, associations and pathology*. Cambridge, MA MIT Press, 1987.
74. Gramsbergen A. EEG development in normal and malnourished rats. *Brain Res* 105:287-308, 1976.
75. Granados, L. Efecto de la malnutrición hipoproteínica prenatal sobre el desarrollo de las fibras musgosas de la formación hipocámpica. Tesis de Maestría. Proyecto de Maestría en Ciencias Fisiológicas, UACPyP-CCH, UNAM, 1995.
76. Granados, L. La formación hipocámpica en ratas bajo malnutrición hipoproteínica prenatal: un estudio comparativo ultraestructural. Tesis Doctoral. Proyecto de Doctorado en Ciencias Fisiológicas, CNB, UNAM, 2000.
77. Granados-Fuentes, D., Roig, J.A, Cintra, L. y Aguilar-Roblero, R. Visual responses from neurons in the suprachiasmatic area in malnourished rats. *Proc. 3rd Latin American Symposium on Chronobiology*. Tlax. Méx. p. 73, 1995.
78. Grasing, K. y Szeto, H. Diurnal variation in continuous measures of the rat EEG power spectra. *Physiol Behav* 51(2): 249-254, 1992.
79. Guevara, P. M.A. Análisis de los potenciales evocados mediante los métodos de componentes principales y regresión lineal múltiple. Tesis de Maestría, UNAM, 1988.
80. Guevara, M.A., Lorenzo, I., Arce, C., Ramos, J. y Corsi-Cabrera M. Inter- and intrahemispheric EEG correlation during Sleep and Wakefulness. *Sleep* 18(4):257-265, 1995.
81. Guevara, P. M.A. Aplicación del Análisis de Correlación a la actividad Electroencefalográfica. Tesis Doctoral UNAM, 1995.
82. Guevara, M.A. y Corsi-Cabrera, M. EEG coherence or EEG correlation? *Int J Psychophysiol* 23(3): 145-153, 1996.
83. Halberg, F. Physiologic 24-hour periodicity in human being and mice, the lighting regimen and daily routine. En: R.B. Withrow (ED.) *Photoperiodicity and related phenomena in plants and animals*. Washington, AAAS, pp.803-878, 1959.
84. Harmony, T., Marosi, E, Fernández, T, Bernal, J, Silva, J., Rodríguez, M. y Reyes, A. EEG coherences in patients with brain lesions. *Intern J Neurosci* 74:203-226, 1994.
85. Herbert, D.C. y Reiter, R.J. Influence of protein-caloric malnutrition on the circadian rhythm of pineal melatonin in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 166: 360-363, 1981.
86. Hobson, J., McCarley, R. W. Sleep cycle oscillation: Reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 189:55-58, 1975.
87. Hobson, A. J. Sleep Mechanisms and pathophysiology: Some clinical implications of the reciprocal interaction hypothesis of sleep cycle control. *Psychosom Med* 45(2): 123-140, 1983.
88. Horne, J. *Why we sleep?. The functions of sleep in humans and other mammals*. Oxford University Press, Oxford, p. 319, 1988.

89. Houdouin, F., Cespuglio, R. y Jouvet, M. Effects induced by the electrical stimulation of the nucleus Raphe dorsalis upon hypothalamic release of 5-hydroxyindole compounds and sleep parameters in the rat. *Brain Res* 565: 48-56, 1991.
90. Ibuka, N. y Kawamura, H. Analysis of sleep-wakefulness cycle in the rat suprachiasmatic nucleus lesion. *Brain Res* 96:76-81, 1975.
91. Inouye, S.T., Takahashi, J.S. Wollnik, F. y Turek F.W. Inhibitor of protein synthesis phase shifts a circadian pacemaker in mammalian SCN. *Am J Physiol* 255(62):R1055-1058, 1988.
92. Issacson, R.L. *The Lymbic System*, Plenum Press, New York, 327 pp, 1982.
93. Jones, B.E. y Yang, T.Z. The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anrograde and retrograde axonal transport in the rat. *J Comp Neurol* 242:56-92, 1985.
94. Jones, B.E. Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neurosci* 40(3):637-656, 1991.
95. Jouvet, M. The role of monoamine and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle *Ergebn Physiol* 64:166-307, 1972.
96. Jouvet, M. The regulation of paradoxical sleep by the hypothalamo-hypophysis. *Arch Ital Biol* 126: 259-274, 1988.
97. Jouvet-Mounier, D., Astic, L. y Lacote, D. Ontogenesis of the states of sleep in rat, cat, and guinea pig during the first postnatal month. *Dev Psychobiol* 2(4): 216-239, 1970.
98. Juárez, J. y Corsi-Cabrera, M. Sex differences in interhemispheric correlation and spectral power of EEG activity. *Brain Res Bull* 38(2):149-151, 1995.
99. Kinney, G.G., Kocsis, B. y Vertes, R.P. Injections of muscimol into the median raphe nucleus produce hippocampal theta rhythm in the urethane anaesthetized rat. *Psychopharmacology-Berl* 120(3):244-248, 1995.
100. Konopacki, J. y Golebiewski, H. theta like activity in hippocampal formation slices: cholinergic-GABAergic interactions. *Neuroreport* 4(7):963-966, 1993.
101. Kretchmer, N. Nutritional influences on neurological development. A contemplative essay. En: P Evrard y A. Minkowski (ED.) *Developmental Neurobiology*. Nestec LTD, Vevey/Raven Press Lt, New York, pp. 261-286, 1989.
102. Lathja, A., Banay-Schwartz, M. y Stella-Giuffrida A. M. Changes in brain protein metabolism with developmental and nutritional state. En: *Clinical aspects on nutrition and brain development*. Alan R Liss, Inc, New York, pp. 43-56, 1987.
103. Leung, L-W. S. Theta rhythm during REM sleep and waking: correlation between power, phase and frequency. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 58:553-564, 1984.
104. Llinas, R.R. y Paré D. Of dreaming and wakefulness. *Neurosci* 44:521-535, 1991.
105. Magni, J., Moruzzi, G. y Pompeiano, O. Synchronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. *Arch Ital Biol* 99:33-39, 1961.
106. McCarley, R.W. y Hobson, J.A. Neuronal excitability modulation over the sleep cycle: a estructural and mathematical model. *Science* 189:58-60, 1975.
107. McCarley, R.W., Nelson, J.P. y Hobson, J.A. Ponto-geniculo-occipital (PGO) waves *Science* 201:269-272, 1978.

108. McCarley, R. W. Brainstem Cholinergic systems and models of REM sleep production. En: J. Montplaisir y R. Godbout (ED.), *Sleep and Biological rhythms: Basic mechanisms and applications to psychiatry*. Oxford University Press, New York pp. 131-147, 1990.
109. McGinty, D.J. y Harper, R.M. Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats. *Brain Res* 101:569-575, 1976.
110. Mokler, D.J., Bronzino, J.D, Galler, J.R. y Morgane, P.J. The effects of median raphé electrical stimulation on serotonin release in the dorsal hippocampal formation of prenatally protein malnourished rats. *Brain Res* 838:95-103, 1999.
111. Monmaur P; Houcine O. y Delacour J. Experimental dissociation between wakefulness and paradoxical sleep hippocampal theta. *Physiol Behav* 23(3): 471-9, 1979.
112. Monmaur, P., Ayadi, K. y Breton, P. Hippocampal EEG responses induced by carbachol and atropine infusions into the septum and the hippocampus in the urethane anaesthetized rat. *Brain Res* 631(2):317-324, 1993.
113. Moore, R. Y. The circadian system and sleep-wake behavior. En: J. Montplaisir y R. Godbout (ED.), *Sleep and Biological rhythms: Basic mechanisms and applications to psychiatry*. Oxford University Press, New York. pp. 3-10, 1990.
114. Moore, R.Y. Development of the suprachiasmatic nucleus. En: Klein, D., Moore, R.Y. y Reppert, S.M. (ED.) *Suprachiasmatic Nucleus. The mind's clock*. Oxford University Press, New York, pp 391-404, 1991.
115. Moore, R.Y. The suprachiasmatic nucleus and the circadian timing system. En: Zatz M. (ED.) *Circadian Rhythms*. Discussion in Neuroscience. VIII(2-3):26-33, 1992.
116. Morales, F.R. y Chase, M.H. Intracellular recording of lumbar motoneuron membrane potential during sleep and wakefulness. *Exp Neurol* 62:821-827, 1978.
117. Morgane, P.J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, J., Hawrylewicz, E. y Resnick, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 2(3): 137-239, 1978.
118. Morgane, P. J., Kemper, T., Cintra, L. y Díaz-Cintra, S., Out-of-phase development of dendritic spines in locus coeruleus and nucleus raphe dorsalis of three age groups. *Develop Brain Res* 4:487-490, 1982.
119. Morgane, P.J., Austin, K.B., Siok, C.S., LaFrance, R.J., Bronzino, J.D. Power spectral analysis of hippocampal and cortical EEG activity following severe prenatal protein malnutrition in the rat. *Dev Brain Res* 22:211-218, 1985.
120. Morgane, P.J; Austin-La France, R; Bronzino, J; Tonkiss, J; Diaz-Cintra, S; Cintra, L; Kemper, T; y Galler, J. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci Biobehav Rev* 17(1):91-128, 1993.
121. Morrison, A.R. Paradoxical sleep and alert wakefulness: Variations on a theme. pp 95-127 En Chase, M.H. y Weitzman, E.D. (ED.) *Sleep disorders, Basic and Clinical Research*. New York, Spectrum, 1983.
122. Moruzzi, G. y Magoun, H.W. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1:455-473, 1949.
123. Nauta, W. Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. *J Neurophysiol* 9:285-316, 1946.
124. Nelson, G.K. The electroencephalogram in kwashiorkor. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 8:459, 1946.

125. Paula-Barbosa, M.M., Andrade, JP, Castedo, JL, Azevedo, FP, Comoes, I., Voght, B y Tavares, MA. Cell lost in the cerebellum and hippocampal formation in adult rats after long-term low protein diet. *Exp Neurol* 103:186-193, 1989.
126. Paxinos, G. y Watson, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Second edition. Academic Press, 1986.
127. Phillips A.G. y Liebllich, I. Developmental and hormonal aspects of hyper-emotionality produced by septal lesions in male rats. *Physiol Behav* 9: 237-242, 1972.
128. Ranck, J.B. Studies of single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. I. Behavioral correlates and firing repertoires. *Exp Neurol* 42:461-531, 1973.
129. Resnick O; Morgane PJ; Hasson R; Miller M Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neurosci Biobehav Rev* 6(1) 55-75 1982.
130. Resnick, O y Morgane, P.J. Ontogeny of the levels of serotonin in various parts of the brain in severely protein malnourished rats. *Brain Res* 303:163-170, 1984.
131. Rodier PM Chronology of neuron development: animal studies and their clinical implications. *Dev Med Child Neurol* 22(4): 525-45 1980.
132. Rusak, B. y Zucker, I. Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol Rev* 59: 449-526, 1979.
133. Sakai, K., Sastre, J., Salvert, D., Touret, M., Tohyama, M. y Jouvet, M. Tegmentoreticular projections with special reference to the muscular atonia during paradoxical sleep in the cat. *Brain Res* 176: 233-254, 1979.
134. Sakai, K. Some anatomical and physiological properties of pontomesencephalic tegmental neurons with special reference to PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. En: Hobson, J.A. y Brazier, M.A.B. (EDS). *The Reticular Formation Revisited*. Raven Press, New York, pp 427-477, 1980.
135. Sakai, K. Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. En D. McGinty y cols., (ED.) *Brain Mechanisms of sleep*. Raven Press NY, pp 111-137, 1985.
136. Sakai, K., El Mansari, M., Lin, J.S., Zhang, J.G. y Vanni-Mercier, G. The posterior hypothalamus in the regulation of wakefulness and paradoxical sleep. En: M. Mancina y G Marini (ED.) *The Diencephalon and Sleep*. Raven Press, Ltd., NY, pp. 171-198, 1990.
137. Salas, M., Díaz, S. y Nieto, A. Effect of neonatal food deprivation on cortical and dendritic development of the rat. *Brain Res* 73:139-144, 1974.
138. Salas, M. y Cintra, L. Development of the Electrocorticogram during starvation in the rat. *Physiol Behav* 14:589-593, 1975.
139. Sarper, C. y Loewy, A. Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res* 197(2):291-317, 1980.
140. Schandry, R. Origins of the main human biosignals. En: Weitkunat, R. (ED.). *Digital biosignal Processing*. pp. 3-35, 1991.
141. Shaw, J.C. Correlation and coherence analysis of the EEG: a selective tutorial review. *Int J Psychophysiol* 1(3): 255-66, 1984.
142. Shaw, J.C., O'Connor K.P. y Ongley, C. The EEG as a measure of cerebral functional organization. *Br J Psychiatry* 130: 260-264, 1977.
143. Sherwood, N.M. y Timiras, P.S. *A stereotaxic atlas of the developing rat brain*. University of California Press, 1970.

144. Shiromani, P. J., Kilduff, T. S., Bloom, F. E. y McCarley, R. W. Cholinergically induced REM sleep triggers fos-like immunoreactivity in dorsolateral pontine regions associated with REM sleep. *Brain Res* 580: 351- 357, 1992.
145. Skinner, R. D. y Garcia-Rill, E. Brainstem modulation of rhythmic functions and behaviors. En: W. R. Klemm y R. P. Vertes (ED.), *Brainstem mechanisms of behavior*. John Wiley & Sons, Inc, N Y, pp. 465-496, 1990.
146. Smart, J.L. Critical periods in brain development. En: *The childhood environment and the adult disease*. Wiley, Chichester, pp 109-128, 1991.
147. Smythe, J.W., Colom, L.V. y Bland, B.H. The extrinsic modulation of hippocampal theta depends on the coactivation of cholinergic and GABA-ergic medial septal inputs. *Neurosci Biobehav Rev* 16(3):289-308, 1992.
148. Staubli, U. y Xu-F.B. Effects of 5-HT₃ receptor antagonism on hippocampal theta rhythm, memory and LTP induction in the freely moving rat. *J Neurosci* 15(3 Pt 2):2445-2452, 1995.
149. Steriade M, y Hobson JA. Neuronal activity during sleep-waking cycle. *Prog Neurobiol* 6:155-376, 1976.
150. Steriade, M., Basic mechanisms of sleep generation. *Neurol* 42 (6):9-18, 1992.
151. Steriade, M., Domich, L. y Oakson, G. The deafferent reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. *J Neurophysiol* 57:260-173, 1987.
152. Steriade, M. y McCarley, R. W. *Brainstem Control of Wakefulness and Sleep*. Plenum Press New York, 1990.
153. Stern, W.C., Forbes, W.B., Resnick, O. y Morgane, P.J. Seizure susceptibility and brain amine levels following protein malnutrition during development in the rat. *Brain Res* 79:375-384, 1974.
154. Stern, W.C., Miller, M., Forbes, W.B., Leahy, J.P., Morgane, P.J. y Resnick, O. Effects of protein malnutrition during development on protein synthesis in brain and peripheral tissues. *Brain Res Bull* 1:27-31, 1976.
155. Steward, O. Topographic organization of the projections from the entorhinal area to the hippocampal formation of the rat. *J Comp Neurol* 167:285-314, 1976.
156. Stupfel, M. y Pavely, A. Ultradian, circahoral and circadian structures in endothermic vertebrates and humans. *Com Biochem Physiol* 96a(1): 1-11, 1990.
157. Swanson, L.W. y Cowan, W.M. The connections of the septal regions in the rat. *J Comp Neurol* 186:621-656, 1979.
158. Szymusiak, R. y McGinty, D. Sleep-waking discharge of basal forebrain projection neurons in cats. *Brain Res Bull* 22:423-430, 1989.
159. Takahashi, J. S. y Turek, F. W. Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, perturbs the phase of a mammalian circadian pacemaker. *Brain Res* 407(1):199-203, 1987.
160. Takigawa, M., Wang, G., Kawasaki, H. y Fukuzako, H. EEG analysis of epilepsy by directed coherence method. A data processing approach. *Int J Psychophysiol* 21(2-3): 65-73, 1996.
161. Thatcher R.W., Krause, P.J. y Hrybyk, M. Cortico-cortical associations and EEG coherence: a two-compartmental model. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 64(2): 123-143, 1986.
162. Thatcher RW; Walker RA; Gerson I; Geisler FH EEG discriminant analyses of mild head trauma. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 73(2): 94-106, 1989.

163. Thatcher, R.W. Tomographic electroencephalography/ magnetoencephalography. Dynamics of human neural network switching. *J Neuroimaging* 5(1): 35-45 , 1995.
164. Tobler, I., Gaus S. E. Deboer T., Achermann P., Fischer M., Rülicker T., Moser M., Oesch B., McBride P.A. y Manson J. C. Altered circadian activity rhythms and sleep in mice devoid of prion protein. *Letters to Nature* 380: 639-642, 1995.
165. UNICEF *The State of the World's Children 1998. Focus on Nutrition*. UNICEF-Oxford University Press. 1998.
<http://www.unicef.org/sowc98/>
166. Venero, J. L., Herrera, A. J., Machado, A. y Cano, J. Changes in neurotransmitter levels associated with the deficiency of some essential amino acids in the diet. *Br J Nutr* 68: 409-420, 1992.
167. Vertes, R. P. Brainstem mechanisms of slow-wave sleep and REM sleep. En: W.R. Klemm y R. P. Vertes (ED.) *Brainstem mechanisms of behavior*. John Wiley & Sons, Inc, NY, pp. 535-583, 1990.
168. Vertes, R.P., Kinney, G.G., Kocsis, B. y Fortin, W.J. Pharmacological suppression of the median raphe nucleus with serotonin1A agonists, 8-OH-DPAT and buspirone produces hippocampal theta rhythm in the rat. *Neurosci* 60(2):441-451, 1994.
169. Winick, M. y Rosso, P. Head circumference and cellular growth of the brain in normal and marasmic children. *J Pediatr* 74:774-778, 1969.
170. Winson, J. Patterns of hippocampal rhythm in the freely moving rat. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 36:291-301, 1974.
171. Winson, J. y Abzug, C. Neuronal transmission through hippocampal pathways dependent on behavior. *J Neurophysiol* 41:716-731, 1978.
172. Yokogoshi, H., Hayase, K. y Yoshida, A. The quality and quantity of dietary protein affect brain protein synthesis in rats. *J Nutr* 122: 2210-2217, 1992.
173. Zhang ,Y., Takahashi, J.S. y Turek, F.W. Critical period for cycloheximide blockade of light-induced phase advances of the circadian locomotor activity rhythm in golden hamsters. *Brain Res* 740(1-2):285-290, 1996.

Apéndice A

Estadística descriptiva

Análisis Espectral
Grupo Co (Fig. 18)
Potencia absoluta ($\log \mu V^2$)

Hz	VIG	ee	SOL	ee	SMOR	ee
1	7.308	0.258	6.748	0.333	5.650	0.195
2	7.408	0.303	7.245	0.266	6.198	0.178
3	6.925	0.300	7.033	0.363	6.110	0.189
4	6.663	0.254	6.895	0.411	6.125	0.165
5	6.530	0.285	6.725	0.407	6.190	0.118
6	6.383	0.259	6.710	0.398	6.803	0.274
7	6.768	0.261	6.713	0.306	7.963	0.329
8	6.993	0.268	6.463	0.345	7.433	0.534
9	6.373	0.231	6.280	0.389	6.585	0.202
10	5.705	0.375	5.948	0.445	5.978	0.126
11	5.238	0.348	5.650	0.456	5.583	0.182
12	5.193	0.532	5.653	0.367	5.348	0.104
13	4.983	0.537	5.318	0.440	5.300	0.113
14	4.820	0.616	5.055	0.350	5.253	0.116
15	4.413	0.442	4.978	0.335	5.108	0.177
16	4.163	0.385	4.658	0.373	4.645	0.111
17	4.008	0.325	4.425	0.360	4.390	0.144
18	3.668	0.415	4.200	0.351	4.425	0.208
19	3.658	0.343	4.030	0.372	4.215	0.191
20	3.443	0.318	3.770	0.374	4.115	0.400
21	3.245	0.348	3.695	0.314	4.180	0.252
22	3.180	0.377	3.455	0.304	3.983	0.276
23	3.015	0.363	3.258	0.363	3.850	0.267
24	2.978	0.399	3.183	0.318	3.893	0.315
25	2.870	0.370	2.870	0.362	3.590	0.267

Potencia relativa (% μV^2)

Hz	VIG	ee	SOL	ee	SMOR	ee
1	14.503	2.107	9.323	3.077	2.665	0.408
2	16.065	2.562	13.803	1.624	4.690	0.828
3	9.680	0.889	11.245	1.554	4.278	0.740
4	7.495	0.895	9.805	1.461	4.185	0.440
5	6.470	0.329	8.208	0.934	4.665	0.924
6	5.555	0.136	8.053	0.831	8.268	1.046
7	8.458	1.199	8.078	0.926	26.188	2.141
8	11.655	3.152	6.245	0.604	17.220	4.481
9	5.600	0.563	5.180	0.417	6.525	0.248
10	2.923	0.488	3.820	0.589	3.778	0.769
11	1.798	0.184	2.850	0.453	2.483	0.376
12	1.888	0.499	2.753	0.131	2.105	0.589
13	1.540	0.396	2.035	0.319	2.043	0.632
14	1.423	0.521	1.520	0.096	1.940	0.583
15	0.825	0.172	1.435	0.200	1.600	0.334
16	0.623	0.096	1.025	0.093	0.975	0.173
17	0.525	0.060	0.815	0.074	0.748	0.097
18	0.393	0.090	0.660	0.085	0.768	0.091
19	0.383	0.068	0.555	0.070	0.623	0.064
20	0.300	0.036	0.425	0.046	0.590	0.124
21	0.253	0.043	0.400	0.058	0.595	0.046
22	0.250	0.060	0.328	0.076	0.490	0.044
23	0.205	0.041	0.255	0.030	0.428	0.037
24	0.200	0.053	0.243	0.042	0.470	0.104
25	0.175	0.038	0.175	0.019	0.333	0.037

**CORRELACIÓN INTRAHEMISFÉRICA
HEMISFERIO IZQUIERDO**

VIGILIA						
Hz	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.077	0.016	0.959	0.085	0.191	0.034
2	0.194	0.021	1.238	0.111	0.318	0.026
3	0.293	0.024	1.353	0.124	0.579	0.043
4	0.386	0.027	1.419	0.127	0.661	0.053
5	0.47	0.026	1.479	0.125	0.72	0.074
6	0.68	0.028	1.586	0.125	0.76	0.093
7	0.733	0.033	1.668	0.119	0.712	0.1
8	0.643	0.033	1.469	0.096	0.711	0.088
9	0.577	0.028	1.454	0.093	0.686	0.085
10	0.494	0.022	1.424	0.082	0.629	0.075
11	0.506	0.023	1.383	0.08	0.56	0.068
12	0.505	0.023	1.347	0.073	0.491	0.059
13	0.509	0.021	1.308	0.071	0.398	0.057
14	0.513	0.018	1.24	0.069	0.338	0.054
15	0.501	0.019	1.218	0.062	0.287	0.05
16	0.464	0.017	1.147	0.057	0.239	0.053
17	0.446	0.017	1.136	0.056	0.171	0.048
18	0.417	0.016	1.078	0.051	0.138	0.047
19	0.399	0.018	1.026	0.049	0.096	0.044
20	0.404	0.019	1.016	0.047	0.061	0.04
21	0.38	0.018	0.977	0.042	0.043	0.041
22	0.366	0.021	0.939	0.041	0.038	0.04
23	0.354	0.018	0.951	0.038	0.025	0.039
24	0.319	0.018	0.913	0.036	-0.002	0.037
25	0.304	0.015	0.914	0.035	-0.008	0.03

HEMISFERIO DERECHO

Hz	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.161	0.019	0.708	0.082	-0.367	0.058
2	0.243	0.016	0.696	0.094	-0.372	0.054
3	0.334	0.022	0.721	0.104	-0.418	0.047
4	0.4	0.025	0.729	0.111	-0.404	0.049
5	0.495	0.027	0.718	0.121	-0.436	0.049
6	0.659	0.03	0.71	0.144	-0.55	0.052
7	0.731	0.034	0.647	0.151	-0.541	0.055
8	0.627	0.028	0.61	0.145	-0.442	0.048
9	0.583	0.024	0.566	0.133	-0.408	0.05
10	0.547	0.02	0.504	0.127	-0.369	0.052
11	0.528	0.023	0.49	0.121	-0.4	0.046
12	0.522	0.019	0.478	0.118	-0.375	0.048
13	0.54	0.02	0.431	0.116	-0.376	0.052
14	0.53	0.019	0.435	0.113	-0.354	0.055
15	0.513	0.018	0.426	0.112	-0.322	0.054
16	0.483	0.018	0.433	0.108	-0.269	0.05
17	0.456	0.019	0.406	0.106	-0.261	0.053
18	0.418	0.018	0.394	0.105	-0.223	0.053
19	0.438	0.019	0.373	0.098	-0.207	0.056
20	0.411	0.016	0.375	0.098	-0.192	0.059
21	0.386	0.018	0.352	0.095	-0.174	0.06
22	0.417	0.02	0.332	0.092	-0.148	0.065
23	0.414	0.019	0.354	0.091	-0.12	0.067
24	0.401	0.017	0.337	0.092	-0.127	0.069
25	0.383	0.021	0.349	0.088	-0.134	0.068

Estadística descriptiva

**CORRELACIÓN INTRAHEMISFÉRICA
HEMISFERIO IZQUIERDO**

	SOL					
Hz	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.134	0.01	1.419	0.076	0.348	0.026
2	0.208	0.018	1.993	0.111	0.464	0.03
3	0.23	0.029	2.219	0.127	0.678	0.047
4	0.254	0.03	2.279	0.124	0.8	0.056
5	0.294	0.027	2.204	0.114	0.871	0.064
6	0.361	0.022	2.153	0.107	0.885	0.075
7	0.474	0.019	2.128	0.098	0.916	0.076
8	0.527	0.018	1.943	0.08	0.902	0.074
9	0.598	0.014	1.996	0.076	0.883	0.07
10	0.603	0.012	1.892	0.067	0.816	0.061
11	0.586	0.014	1.805	0.064	0.724	0.052
12	0.591	0.013	1.715	0.057	0.6	0.048
13	0.563	0.011	1.655	0.052	0.542	0.043
14	0.546	0.012	1.577	0.051	0.422	0.039
15	0.515	0.014	1.522	0.046	0.403	0.04
16	0.481	0.013	1.432	0.042	0.338	0.036
17	0.457	0.014	1.407	0.041	0.281	0.036
18	0.454	0.013	1.365	0.036	0.217	0.033
19	0.445	0.014	1.311	0.036	0.182	0.033
20	0.446	0.015	1.26	0.034	0.138	0.031
21	0.448	0.014	1.224	0.032	0.109	0.03
22	0.461	0.015	1.221	0.032	0.088	0.031
23	0.432	0.015	1.164	0.033	0.059	0.027
24	0.423	0.014	1.129	0.03	0.066	0.024
25	0.412	0.014	1.124	0.027	0.026	0.027

HEMISFERIO DERECHO

Hz	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.209	0.018	1.403	0.074	-0.89	0.084
2	0.321	0.022	1.692	0.104	-1.003	0.083
3	0.486	0.027	1.772	0.118	-1.008	0.069
4	0.488	0.033	1.872	0.124	-0.988	0.06
5	0.477	0.031	1.871	0.123	-0.955	0.06
6	0.459	0.025	1.793	0.125	-0.898	0.055
7	0.5	0.018	1.722	0.124	-0.861	0.052
8	0.536	0.021	1.561	0.122	-0.757	0.048
9	0.617	0.017	1.483	0.116	-0.699	0.05
10	0.61	0.018	1.336	0.113	-0.617	0.049
11	0.603	0.017	1.307	0.105	-0.543	0.052
12	0.586	0.016	1.23	0.107	-0.474	0.054
13	0.587	0.017	1.237	0.102	-0.414	0.056
14	0.557	0.018	1.163	0.101	-0.375	0.056
15	0.536	0.018	1.128	0.093	-0.31	0.058
16	0.481	0.019	1.081	0.091	-0.252	0.059
17	0.512	0.016	1.067	0.09	-0.263	0.058
18	0.474	0.016	1.029	0.085	-0.206	0.063
19	0.479	0.014	0.984	0.085	-0.174	0.062
20	0.454	0.015	0.926	0.084	-0.159	0.062
21	0.429	0.016	0.92	0.081	-0.156	0.064
22	0.438	0.016	0.877	0.082	-0.109	0.066
23	0.421	0.016	0.844	0.077	-0.09	0.065
24	0.389	0.015	0.829	0.071	-0.068	0.066
25	0.397	0.014	0.817	0.073	-0.049	0.066

**CORRELACIÓN INTRAHEMISFÉRICA
HEMISFERIO IZQUIERDO**

Hz	SMOR					
	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.106	0.018	0.798	0.06	0.314	0.027
2	0.23	0.025	1.176	0.06	0.491	0.015
3	0.386	0.024	1.339	0.066	0.747	0.027
4	0.383	0.024	1.499	0.07	0.823	0.044
5	0.551	0.023	1.551	0.077	0.845	0.074
6	0.735	0.023	1.854	0.087	0.743	0.119
7	0.98	0.034	2.234	0.091	0.617	0.14
8	0.791	0.03	1.777	0.067	0.764	0.117
9	0.662	0.025	1.657	0.08	0.804	0.101
10	0.613	0.022	1.516	0.069	0.774	0.087
11	0.562	0.027	1.345	0.07	0.734	0.08
12	0.593	0.023	1.322	0.059	0.687	0.076
13	0.651	0.02	1.332	0.066	0.577	0.07
14	0.662	0.029	1.276	0.055	0.518	0.061
15	0.518	0.022	1.214	0.056	0.384	0.054
16	0.457	0.021	1.131	0.05	0.346	0.047
17	0.366	0.023	1.12	0.045	0.28	0.042
18	0.361	0.02	1.061	0.053	0.173	0.041
19	0.356	0.018	1.088	0.044	0.158	0.038
20	0.315	0.021	0.994	0.045	0.125	0.038
21	0.345	0.021	0.975	0.039	0.064	0.034
22	0.309	0.018	0.902	0.043	0.021	0.034
23	0.286	0.021	0.913	0.038	0.036	0.033
24	0.29	0.019	0.87	0.036	0.017	0.032
25	0.276	0.021	0.902	0.023	0.018	0.032

HEMISFERIO DERECHO

Hz	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.205	0.023	0.642	0.056	-0.633	0.071
2	0.37	0.025	0.619	0.064	-0.697	0.067
3	0.499	0.028	0.649	0.078	-0.645	0.047
4	0.541	0.028	0.756	0.076	-0.708	0.049
5	0.624	0.025	0.766	0.099	-0.814	0.061
6	0.841	0.031	0.928	0.127	-1.008	0.077
7	1.047	0.029	1.112	0.177	-1.077	0.083
8	0.858	0.04	0.898	0.153	-0.832	0.057
9	0.724	0.026	0.833	0.129	-0.751	0.054
10	0.661	0.025	0.709	0.108	-0.698	0.057
11	0.583	0.024	0.612	0.094	-0.666	0.064
12	0.694	0.025	0.574	0.1	-0.703	0.07
13	0.704	0.025	0.638	0.09	-0.724	0.079
14	0.682	0.021	0.606	0.093	-0.673	0.084
15	0.544	0.026	0.58	0.091	-0.594	0.082
16	0.477	0.024	0.51	0.104	-0.413	0.074
17	0.467	0.026	0.473	0.091	-0.396	0.081
18	0.462	0.023	0.534	0.09	-0.336	0.084
19	0.429	0.025	0.465	0.081	-0.293	0.082
20	0.405	0.031	0.478	0.086	-0.275	0.083
21	0.393	0.023	0.455	0.08	-0.229	0.086
22	0.364	0.032	0.437	0.078	-0.19	0.087
23	0.371	0.029	0.432	0.081	-0.145	0.088
24	0.276	0.027	0.417	0.074	-0.148	0.086
25	0.294	0.023	0.426	0.077	-0.129	0.088

CORRELACIÓN INTERHEMISFÉRICA HIPOCAMPO

VIGILIA

Hz	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.373	0.063	0.856	0.082	-0.183	0.041
2	0.432	0.069	1.079	0.082	-0.13	0.042
3	0.528	0.072	1.123	0.089	-0.07	0.043
4	0.567	0.067	1.142	0.094	0.019	0.044
5	0.652	0.064	1.124	0.096	0.079	0.048
6	0.869	0.064	1.11	0.117	0.071	0.052
7	0.908	0.058	1.034	0.125	0.117	0.052
8	0.78	0.06	0.9	0.114	0.126	0.048
9	0.659	0.048	0.699	0.098	0.112	0.05
10	0.589	0.044	0.596	0.094	0.063	0.05
11	0.572	0.038	0.528	0.089	0.027	0.047
12	0.573	0.037	0.481	0.09	-0.003	0.047
13	0.567	0.034	0.452	0.084	0.017	0.046
14	0.577	0.034	0.446	0.083	0.031	0.043
15	0.573	0.036	0.407	0.083	0.014	0.044
16	0.554	0.037	0.399	0.083	0.015	0.046
17	0.521	0.034	0.354	0.082	-0.013	0.048
18	0.485	0.03	0.347	0.081	-0.017	0.046
19	0.501	0.033	0.3	0.076	-0.064	0.048
20	0.507	0.033	0.3	0.08	-0.067	0.049
21	0.466	0.029	0.252	0.079	-0.071	0.055
22	0.471	0.034	0.238	0.075	-0.087	0.054
23	0.449	0.031	0.256	0.078	-0.094	0.055
24	0.418	0.03	0.257	0.075	-0.074	0.062
25	0.42	0.026	0.248	0.074	-0.096	0.059

CORTEZA OCCIPITAL

1	0.163	0.03	0.857	0.058	0.215	0.036
2	0.29	0.023	1.063	0.067	0.105	0.058
3	0.405	0.023	1.153	0.07	0.114	0.058
4	0.507	0.025	1.169	0.078	0.148	0.051
5	0.602	0.026	1.234	0.074	0.192	0.045
6	0.814	0.031	1.391	0.074	0.293	0.052
7	0.897	0.034	1.41	0.07	0.272	0.048
8	0.784	0.033	1.323	0.063	0.251	0.04
9	0.719	0.029	1.243	0.061	0.199	0.031
10	0.665	0.026	1.139	0.055	0.213	0.03
11	0.647	0.027	1.087	0.056	0.235	0.026
12	0.653	0.023	1.072	0.057	0.233	0.022
13	0.648	0.025	1.003	0.054	0.257	0.024
14	0.653	0.025	0.964	0.051	0.251	0.024
15	0.603	0.026	0.916	0.049	0.221	0.024
16	0.583	0.022	0.831	0.046	0.236	0.025
17	0.543	0.024	0.822	0.05	0.222	0.024
18	0.5	0.023	0.789	0.048	0.223	0.027
19	0.504	0.025	0.728	0.043	0.238	0.029
20	0.489	0.024	0.705	0.043	0.265	0.029
21	0.465	0.023	0.683	0.043	0.276	0.032
22	0.467	0.028	0.643	0.039	0.281	0.034
23	0.46	0.026	0.625	0.041	0.277	0.034
24	0.439	0.024	0.638	0.04	0.288	0.034
25	0.425	0.027	0.621	0.041	0.3	0.032

CORRELACIÓN INTERHEMISFÉRICA HIPOCAMPO

	SOL					
H _z	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.798	0.076	1.355	0.068	-0.183	0.044
2	0.841	0.085	1.892	0.072	-0.122	0.04
3	0.895	0.097	2.114	0.078	-0.052	0.032
4	0.935	0.097	2.149	0.081	-0.004	0.033
5	0.96	0.092	2.025	0.081	0.033	0.037
6	0.975	0.083	1.878	0.083	0.069	0.036
7	1.051	0.077	1.759	0.083	0.079	0.041
8	1.152	0.08	1.552	0.084	0.091	0.042
9	1.077	0.062	1.408	0.083	0.051	0.044
10	1.032	0.053	1.225	0.078	0.004	0.045
11	0.951	0.047	1.155	0.078	-0.03	0.047
12	0.919	0.042	1.09	0.078	-0.019	0.045
13	0.864	0.04	1.034	0.077	-0.005	0.048
14	0.849	0.039	0.955	0.073	-0.009	0.047
15	0.776	0.038	0.905	0.073	-0.01	0.05
16	0.823	0.045	0.897	0.071	-0.024	0.051
17	0.735	0.04	0.827	0.072	-0.027	0.049
18	0.719	0.037	0.771	0.07	-0.022	0.047
19	0.698	0.037	0.762	0.065	-0.027	0.049
20	0.697	0.036	0.701	0.067	-0.039	0.048
21	0.698	0.034	0.681	0.063	-0.017	0.05
22	0.679	0.036	0.654	0.064	-0.015	0.051
23	0.666	0.033	0.613	0.062	-0.052	0.049
24	0.652	0.031	0.598	0.059	-0.058	0.051
25	0.635	0.031	0.585	0.062	-0.043	0.053

CORTEZA OCCIPITAL

1	0.375	0.018	1.464	0.058	0.41	0.042
2	0.485	0.015	2.042	0.069	0.438	0.077
3	0.646	0.019	2.192	0.08	0.511	0.081
4	0.707	0.022	2.287	0.087	0.535	0.068
5	0.709	0.021	2.225	0.085	0.526	0.059
6	0.661	0.018	2.196	0.083	0.512	0.052
7	0.697	0.015	2.114	0.077	0.513	0.044
8	0.747	0.015	1.972	0.062	0.448	0.034
9	0.763	0.016	1.934	0.06	0.402	0.028
10	0.753	0.018	1.783	0.058	0.368	0.019
11	0.732	0.019	1.703	0.053	0.344	0.013
12	0.698	0.02	1.628	0.049	0.338	0.01
13	0.676	0.02	1.551	0.049	0.346	0.012
14	0.649	0.022	1.436	0.046	0.372	0.011
15	0.594	0.023	1.366	0.048	0.392	0.013
16	0.574	0.022	1.309	0.045	0.393	0.014
17	0.551	0.023	1.25	0.046	0.365	0.013
18	0.529	0.023	1.208	0.042	0.421	0.017
19	0.514	0.023	1.142	0.041	0.436	0.018
20	0.487	0.022	1.125	0.037	0.458	0.021
21	0.469	0.023	1.05	0.037	0.49	0.022
22	0.469	0.023	1.05	0.037	0.479	0.023
23	0.445	0.022	1.01	0.038	0.46	0.025
24	0.409	0.022	0.955	0.037	0.479	0.024
25	0.413	0.019	0.946	0.035	0.483	0.023

CORRELACIÓN INTERHEMISFÉRICA HIPOCAMPO

Hz	SMOR					
	Co	eeCo	MPr	eeMPr	MCr	eeMCr
1	0.564	0.063	0.681	0.065	-0.318	0.056
2	0.658	0.072	0.828	0.063	-0.336	0.057
3	0.789	0.075	0.889	0.067	-0.222	0.058
4	0.829	0.077	0.921	0.075	-0.134	0.056
5	0.983	0.081	1.004	0.08	0.03	0.056
6	1.267	0.083	1.238	0.111	0.28	0.046
7	1.48	0.079	1.445	0.146	0.354	0.037
8	1.314	0.094	1.141	0.127	0.191	0.04
9	1.009	0.07	0.842	0.097	0.092	0.048
10	0.844	0.057	0.682	0.078	0.005	0.054
11	0.742	0.049	0.579	0.057	0.01	0.051
12	0.758	0.043	0.474	0.058	0.029	0.046
13	0.789	0.039	0.448	0.05	0.044	0.039
14	0.796	0.039	0.419	0.046	0.028	0.039
15	0.724	0.04	0.384	0.052	0.003	0.04
16	0.691	0.053	0.371	0.055	-0.001	0.052
17	0.569	0.039	0.316	0.057	-0.029	0.055
18	0.533	0.036	0.407	0.052	-0.015	0.057
19	0.518	0.033	0.356	0.06	-0.032	0.057
20	0.494	0.035	0.331	0.059	-0.019	0.057
21	0.51	0.041	0.339	0.059	-0.039	0.058
22	0.505	0.036	0.354	0.056	-0.024	0.059
23	0.507	0.04	0.338	0.067	0.01	0.062
24	0.443	0.038	0.311	0.059	-0.021	0.065
25	0.441	0.04	0.324	0.064	-0.013	0.067

CORTEZA OCCIPITAL

1	0.279	0.029	0.639	0.046	0.345	0.042
2	0.421	0.025	0.835	0.049	0.3	0.062
3	0.547	0.033	0.913	0.054	0.204	0.056
4	0.542	0.024	1.001	0.055	0.252	0.049
5	0.722	0.03	1.199	0.053	0.373	0.051
6	1.044	0.049	1.539	0.046	0.609	0.07
7	1.413	0.058	2.012	0.054	0.703	0.074
8	1.186	0.05	1.526	0.056	0.503	0.047
9	0.883	0.032	1.411	0.051	0.361	0.029
10	0.796	0.029	1.136	0.055	0.356	0.022
11	0.664	0.032	1.037	0.048	0.343	0.019
12	0.702	0.031	0.991	0.039	0.35	0.018
13	0.785	0.028	0.946	0.045	0.405	0.016
14	0.74	0.022	0.899	0.041	0.396	0.016
15	0.619	0.028	0.846	0.039	0.402	0.014
16	0.545	0.02	0.841	0.026	0.406	0.013
17	0.52	0.036	0.818	0.038	0.386	0.016
18	0.501	0.024	0.764	0.043	0.397	0.016
19	0.439	0.026	0.717	0.038	0.407	0.017
20	0.451	0.033	0.678	0.044	0.436	0.019
21	0.389	0.026	0.661	0.039	0.455	0.022
22	0.365	0.035	0.621	0.04	0.443	0.021
23	0.398	0.035	0.663	0.033	0.441	0.02
24	0.333	0.03	0.604	0.036	0.444	0.022
25	0.324	0.035	0.611	0.038	0.451	0.025

Apéndice B

Artículo

Effects of Protein Malnutrition on Vigilance States and their Circadian Rhythms in 30-Day-Old Rats Submitted Total Sleep Deprivation

P. DURÁN^a, A. GALVÁN^a, L. GRANADOS^b, R. AGUILAR-ROBLERO^c and L. CINTRA^{a,*}

^aCentro de Neurobiología, UNAM, Campus UNAM-UAQ Juriquilla, P.O. Box 1-1141, Querétaro, Qro. 76001, México;

^bInstituto Nacional de Pediatría UISI SS, México, D.F. 04530, México; ^cInstituto de Fisiología Celular, UNAM, Cd. Universitaria México, D.F. 04510, México

(Received 4 September 1998)

This study examined how chronic protein malnutrition (6% casein diet) affected the electrocorticogram (ECoG) in young rats following 24 h of sleep deprivation. Baseline (basal day) ECoG-polygraphic recordings were obtained in Sprague-Dawley rats after which animals were sleep-deprived for 24 h by means of a slowly rotating cylinder. ECoG recordings were subsequently obtained for a further three days of recovery. Body weight was significantly reduced in malnourished rats from postnatal day 4 until 34. On basal day, malnourished rats showed a significant increase of slow wave sleep (SWS) during the light and dark phases of the circadian period, and over the 24 h of recording in comparison to control rats. Also, rapid eye movement sleep (REMS) was significantly increased in these rats during the 12-h dark phase of basal day, but wake ECoG activity was significantly reduced during both light and dark phases and over the 24 h of recording, as a result of sleep increases. After sleep deprivation, young malnourished rats failed to show any significant SWS rebound and, unlike control rats, they did not regain pre-deprivation SWS levels within the 3-day post-deprivation recovery period. Further, malnourished rats also failed to have a significant REMS rebound, especially during the dark phase. These results show an important alteration produced by protein malnutrition in the

homeostatic and circadian control of vigilance states before and after sleep deprivation.

Keywords: Circadian rhythms, Malnutrition, REM sleep rebound, SWS rebound, Total sleep deprivation, Vigilance states

INTRODUCTION

Sleep deprivation has been used in recent years as a technique for unraveling sleep functions. A homeostatic function of sleep regulation was proposed from sleep deprivation experiments in several species, including rats and humans, where loss of sleep induces a compensatory increase of slow wave sleep (SWS) (Borbély *et al.*, 1983). In both species, sleep deprivation (12 h for rats and 40.5 h for humans) enhances SWS but does not increase rapid eye movement sleep (REMS) significantly (Borbély *et al.*, 1981; Borbély

*Corresponding author. Tel.: 525 623 3457. Fax: 5242 34 0344. E-mail: cintra@servidor.unam.mx.

and Neuhaus, 1978; Borbély, 1978). The electroencephalogram (EEG) of the slow wave activity of non-rapid eye movement sleep (NREMS), using amplitude and frequency measures, shows different trends during a 24-h period. The high amplitude low frequency activity declines in the course of the 12-h of light when the rat predominantly sleeps. This kind of activity increases during the course of the 12-h dark period, when the rat is predominantly awake (Borbély *et al.*, 1983; Rosenberg *et al.*, 1976). A possible functional significance of these changes became apparent from sleep deprivation experiments. An increase in the high amplitude and low frequency fraction of the NREMS in the recovery period is produced by enforced waking (Friedman *et al.*, 1979; Borbély *et al.*, 1983; 1984). Nowadays it is very well known that malnutrition affects the central nervous system (CNS), especially during the rapid growth spurt or "critical period" (Dobbing and Sands, 1971). It produces alterations in macro- and micro-neurogenesis and gliogenesis, and also disrupts the sleep-wake cycle and its circadian rhythmicity (Cintra *et al.*, 1988). It is also known that in the rat maturing processes of the sleep-wake cycle take place during postnatal development until approximately 40 days of age (Alföldi *et al.*, 1990) and that malnutrition affects the process of neural generation and maturation.

The aim of this study was to analyze if there were alterations produced by chronic malnutrition in the establishment of homeostatic and circadian mechanisms related to the control of vigilance states and the sleep-wake cycle during the critical period of CNS development. To this end, we evaluated the effect of pre- and postnatal chronic protein malnutrition induced by a 6% casein diet on three vigilance states (wake (WAK), SWS, and REMS) and its circadian rhythmicity on the CNS of 30-day-old rats (baseline). Following 24-h of enforced walking in a slowly rotating cylinder, vigilance states and their circadian rhythms were analyzed in malnourished and control group rats during three days of recovery.

MATERIAL AND METHODS

Animals and Electrode Implants

Six control and six malnourished male Sprague-Dawley rats were studied. They were born and raised in our colony. The mothers of these animals were maintained *ad libitum* on either a 6% or 25% casein diet, (rat chow cubes, Teklad Wisconsin) for 5 weeks prior to mating and throughout gestation and lactation. After weaning on day 21, rats were fed *ad libitum* with the same diet as their mothers, with unlimited access to water up to 35 days of age, at which time they were sacrificed and their brains were prepared for histological analysis to determine the position of the electrode. Both diets were isocaloric, according to the protocol used in previous studies (Cintra *et al.*, 1988). Details of the composition of these diets and raising of animals have been reported previously (Morgane *et al.*, 1978).

Electrode implantation was performed at postnatal day 23. Stainless steel bipolar electrodes were implanted stereotaxically in the left occipital cortex (3.0–3.2 mm lateral from the midline of sagittal suture and 2.0–2.2 mm anterior to λ). Bipolar electrodes of the same material were implanted in the dorsal neck muscles, and one reference screw electrode was fixed in the bone located above the cerebellar region. All electrodes were connected to an Amphenol cap mounted on the animal's skull, fixed with dental acrylic cement.

Experimental Protocol

Vigilance state recordings started 7 days after surgery. At 29 days of age, each rat was placed, for habituation, in an electrically shielded, sound-attenuated chamber (38 × 38 × 114 cm), illuminated by a fluorescent white lamp of 128 luxes. They remained undisturbed with electrode cables attached. Electrode cables were connected to a counter-weighted Airflyte 9-lead slip ring. Food and water were available *ad libitum* and

a 12:12 h light-dark cycle, with lights on from 8:00 to 20:00 h automatically controlled by a timer, was enforced during every day of the experiment. The recording chambers were housed in a sound-attenuating room maintained at ambient temperature (24–25°C) and 40–50% humidity. Recordings were started at 30 days of age (basal day). Electroencephalograms (EEG) and electromyograms (EMG) were obtained with use of an 8-channel Grass model 7 polygraph. After the basal day (BD) recording, all animals were submitted to total sleep deprivation (SD), started up at light-onset 8:00–20:00 h and continued during the dark phase 20:00–8:00 h.

SD was carried out by placing for 24-h each of the rats into one of the four individual compartments of a slowly rotating cylinder; each compartment was 6 cm wide, separated by black acrylic disks measuring 32 cm in diameter and 5 mm thick, and covered with a wire mesh as a floor. These disks were mounted on the axis of a Palmer kymograph that rotated at a rate of 1 turn/2.4 min (this velocity was selected in order to avoid deaths in malnourished animals) (Figure 1). Unlimited access to food and water was also provided in the cylinder. The rats were put back into the recording chambers and 24-h records

were made for three consecutive day of recovery from SD (32, 33, and 34 days of age).

Recording and Data Analysis

Three states of vigilance were distinguished: WAK, SWS and REMS. ECoG during WAK and REMS showed low amplitude and high frequency, whereas high amplitude slow waves were typical of SWS. The EMG showed high amplitude during WAK and low amplitude during SWS and REMS.

The forty-eight polygraphic recordings of 24-h each were visually scored in epochs of 12 s. All observations were made blind with respect to diet. The number of epochs spent in WAK, SWS, and REMS were keyed into a Printaform model 5710-IBM PC. In order to determine the time (in minutes) spent in each state, a program (Forbes *et al.*, 1977) that calculates the time and percentage of vigilance states from scoring epochs was run for each animal. Also, the percentages of WAK, SWS and REMS in each 4-h block during 12-h light or 12-h dark phases, and during the complete 24-h light-dark period, were calculated.

The average time spent in each of the three states of vigilance, in both groups during the BD and the 3 recovery days (RD) was then computed.

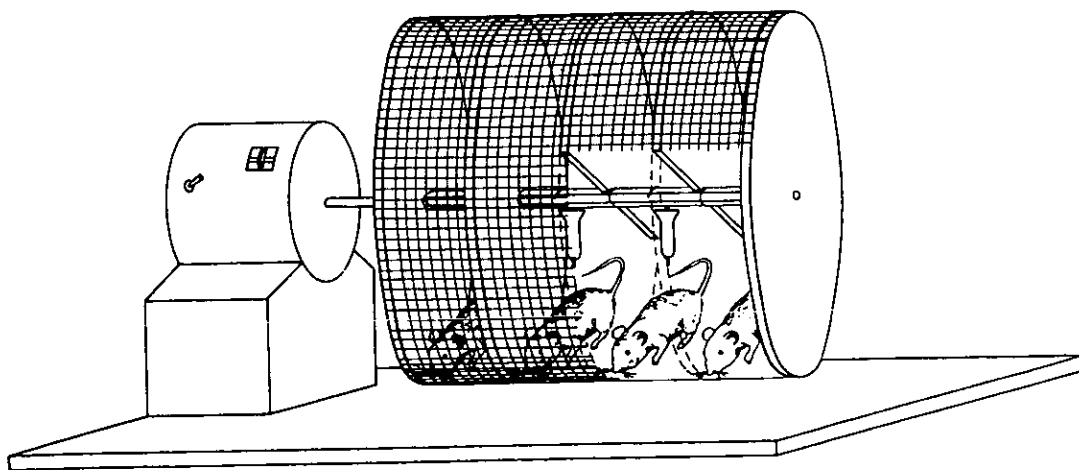


FIGURE 1 Rotating cylinder used for sleep deprivation in 30-day-old rats. The instrument was made with a Palmer Kymograph and 5 black acrylic disks (diameter 32 cm, width 5 mm), separated 6-cm each one that were mounted on the axis of the kymograph and were covered with a wire mesh as floor. Food and water were supplied *ad libitum* during sleep-deprivation.

The statistical comparisons between groups were made using a two-way ANOVA and Tukey *post-hoc* test with at least a 95% significant value. In all cases, the position of the electrode in the brain was verified by Nissl staining using the stereotaxic atlas of Sherwood and Timiras (1970).

RESULTS

Body weight was significantly reduced in malnourished rats from day 4 to 34 (Figure 2). Malnutrition affected the vigilance states on the basal day (BD) by significantly decreasing WAK ($p < 0.01$) and increasing SWS ($p < 0.01$) during the 12 h of light (L) or rest phase. Further, the same significant effect of a decrement in WAK ($p < 0.01$) and increment in SWS ($p < 0.01$) during dark (D) or activity phase and the total 24 h of both phases was observed. However, REMS showed only a significant increase in malnourished rats ($p < 0.01$), during the dark phase, showing a

circadian phase shift (Figure 3). On recovery days (RD), malnourished rats showed only a significant decrease of REMS during the light phase on days 1, 2 and 3 ($p < 0.01$).

Vigilance states distributed in 12-h-blocks of BD versus each RD, after SD, were compared and 25 significant changes were found: only 6 for control animals and 19 for malnourished rats. Control animals showed only two significant reductions in waking in RD1, during the dark phase and 24-h. Also these animals showed a significant decrease of SWS in RD1 during L phase and one significant increase during D phase. REMS was significantly increased in control rats during L phase and LD period. However, malnourished animals showed two significant increases in waking during L phase in RD2 and RD3, one significant increase of this state during RD3 and also showed three significant increases in WAK at RD1, RD2 and RD3 during LD. SWS was significantly decreased in all recovery days during L, D and LD cycle. REMS showed significant increase in RD1 during

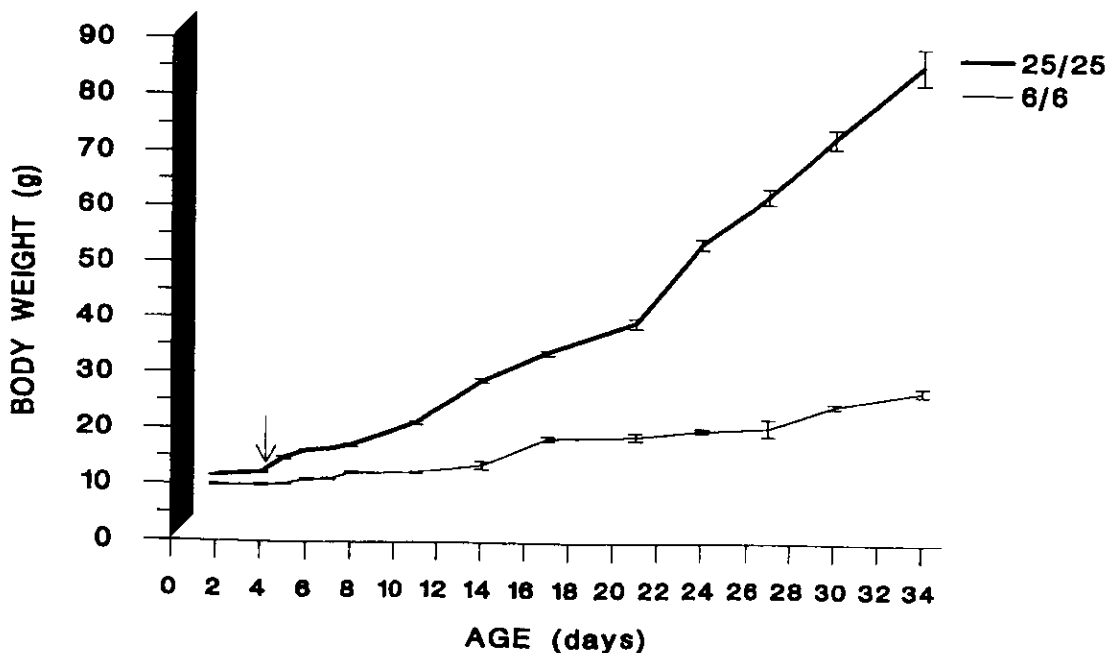


FIGURE 2 Body weight was significantly reduced in malnourished (6/6) rats from day 4 (arrow) until offering. Each point is the average (\pm SE) of six animals.

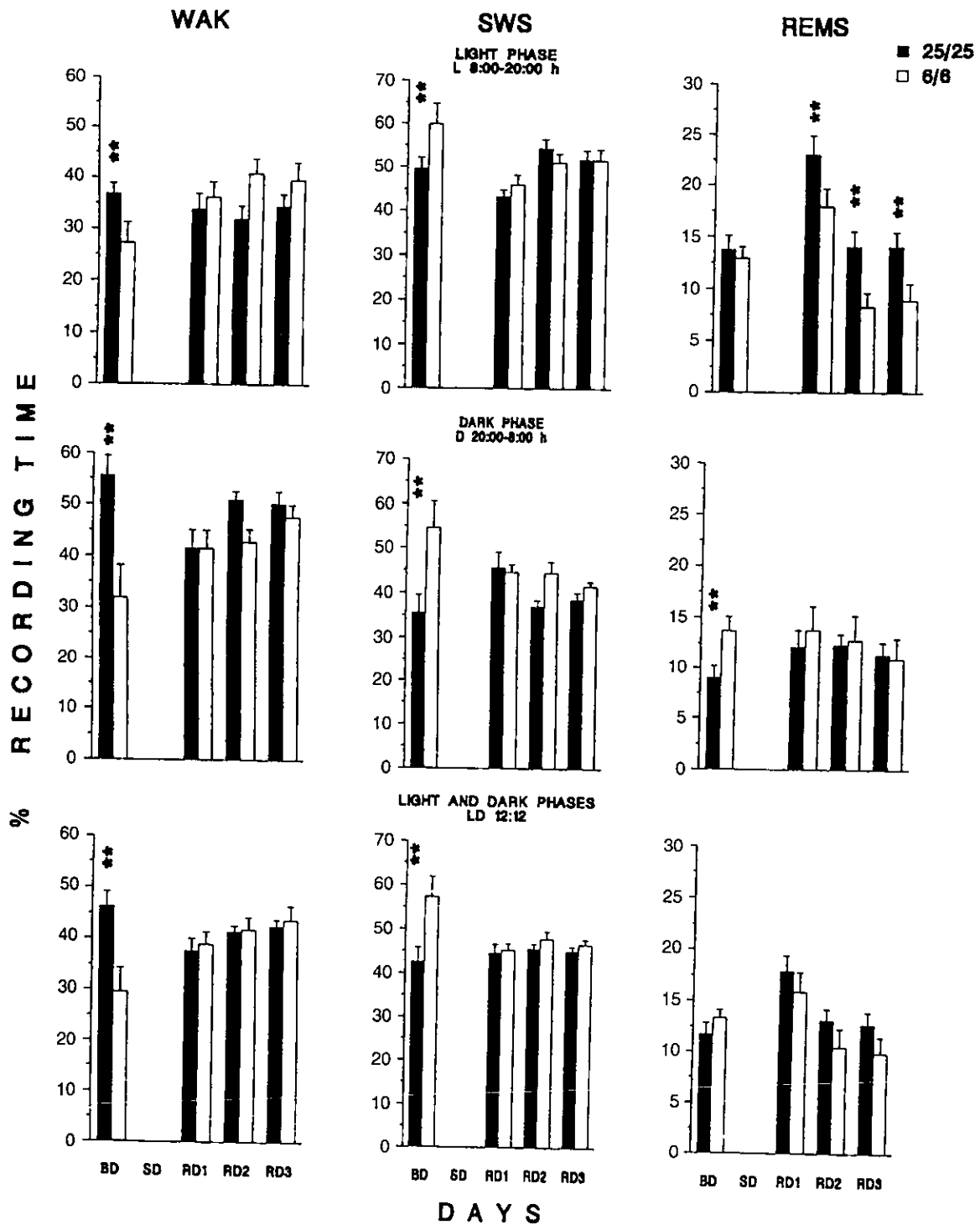


FIGURE 3 Effect of 24 h SD on vigilance states in control (25/25) and malnourished (6/6) rats. Comparison of 25/25 versus 6/6 rats. Each bar represents the mean % of recording time during the rest (light), activity (dark) phases, and the 24 h (light and dark) on the BD and three recovery days (1, 2 and 3). WAK, waking; SWS, slow wave sleep; REMS, rapid eye movement sleep. $n = 6$ animals. SE is indicated. Significant differences * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ANOVA and Tukey *post hoc* test.

TABLE I Comparison of vigilance states between the basal day (BD) versus each one of three recovery days (RD1–RD3) in control and malnourished rats of 30 days of age

Day	Control			Malnourished		
	L	D	LD	L	D	LD
WAK						
BD	36.8 (2.1)	55.5 (3.9)	46.2 (2.9)	27.2 (4.0)	31.8 (6.4)	29.5 (4.8)
	<i>Sleep deprivation 24-h</i>					
RD1	33.8 (3.1)	41.5 ^b (3.6)	37.6 ^a (2.4)	36.2 (3.0)	41.5 (3.5)	38.9 ^b (2.4)
RD2	31.8 (2.7)	50.9 (1.7)	41.3 (1.2)	40.8 ^b (2.9)	42.7 (2.5)	41.7 ^b (2.4)
RD3	34.4 (2.4)	50.2 (2.4)	42.4 (1.3)	39.6 ^b (3.4)	47.6 ^b (2.4)	43.6 ^b (2.8)
SWS						
BD	49.5 (2.6)	35.4 (4.1)	42.5 (3.2)	59.9 (4.7)	54.5 (6.0)	57.2 (4.6)
	<i>Sleep deprivation 24-h</i>					
RD1	43.2 ^b (1.7)	45.7 ^a (3.5)	44.5 (2.0)	45.9 ^b (2.2)	44.6 ^b (1.8)	45.2 ^b (1.4)
RD2	54.2 (2.1)	36.9 (1.5)	45.5 (1.2)	50.9 ^b (2.2)	44.5 ^a (2.4)	47.7 ^b (1.8)
RD3	51.6 (2.2)	38.5 (1.6)	45.0 (1.1)	51.5 ^a (2.6)	41.5 ^a (1.0)	46.5 ^b (1.1)
REMS						
BD	13.7 (1.4)	9.0 (1.2)	11.7 (1.1)	12.9 (1.1)	13.7 (1.4)	13.3 (0.8)
	<i>Sleep deprivation 24-h</i>					
RD1	23.0 ^b (1.9)	12.1 (1.7)	17.9 ^b (1.5)	17.9 ^a (1.8)	13.8 (2.3)	15.9 (1.9)
RD2	14.0 (1.5)	12.3 (1.1)	13.1 (1.1)	8.3 ^a (1.3)	12.8 (2.4)	10.5 (1.8)
RD3	14.0 (1.4)	11.3 (1.3)	12.7 (1.2)	8.9 ^a (1.6)	10.9 (2.1)	9.9 ^a (1.6)

Values are the means (\pm SE), $n = 6$. Percentage of recording time of vigilance states during the light (L), dark (D) phases and the 24 h light–dark (LD) phases. WAK, waking; SWS, slow wave sleep; REMS, rapid eye movement sleep. Significant differences: ^a $p < 0.05$, and ^b $p < 0.01$. Comparison of basal day versus each one recovery day Tukey *post hoc* test.

L phase and two significant decreases at RD2 and RD3 in L phase, also a significant reduction was found in RD3 during L:D cycle (Table I).

Circadian distribution of six 4-h blocks during BD (Figure 4) in malnourished rats showed a significant decrease ($p < 0.01$) of WAK during the activity phase in its 3 blocks (20:00–8:00 h). A significant increase ($p < 0.05$) of SWS in the same 3 blocks of activity phase was also observed. Malnourished animals showed a significant increase ($p < 0.05$) in WAK in the 12–16 h block on RD1. They also showed a significant decrease ($p < 0.05$) in REMS on the 12–16 h block. Protein-deprived rats showed a significant decrease ($p < 0.01$) of REMS on the RD2 16–20 h block. In WAK, they showed a significant decrease ($p < 0.01$) on 4–8 h block and in SWS those malnourished rats showed a significant increase ($p < 0.05$) on the same block. On RD3, malnourished rats showed

only a significant decrease ($p < 0.05$) in WAK on the 4–8 h block and a significant increase ($p < 0.05$) of REMS on the same block.

Comparison of six 4-h blocks of vigilance states on BD versus RD1 (Figure 5) showed that control rats had a significant WAK decrease in RD1 during the activity phase in 2 blocks: from 24–4 h (both $p < 0.05$). However, malnourished rats showed significant WAK increases (both $p < 0.05$) in RD1 in the 8–12 h and 20–24 h blocks. Control animals showed a significant SWS decrease ($p < 0.05$) in 8–12 h block when comparing BD versus RD1. Again, malnourished rats showed a significant SWS decrease ($p < 0.05$) in the 8–12 h block when comparing BD versus RD1. Also, they showed two significant decreases (both $p < 0.05$) in the 20:00–4:00 h block (Figure 5). Control animals showed a significant increased rebound of REMS ($p < 0.05$), in both the 8–12 h

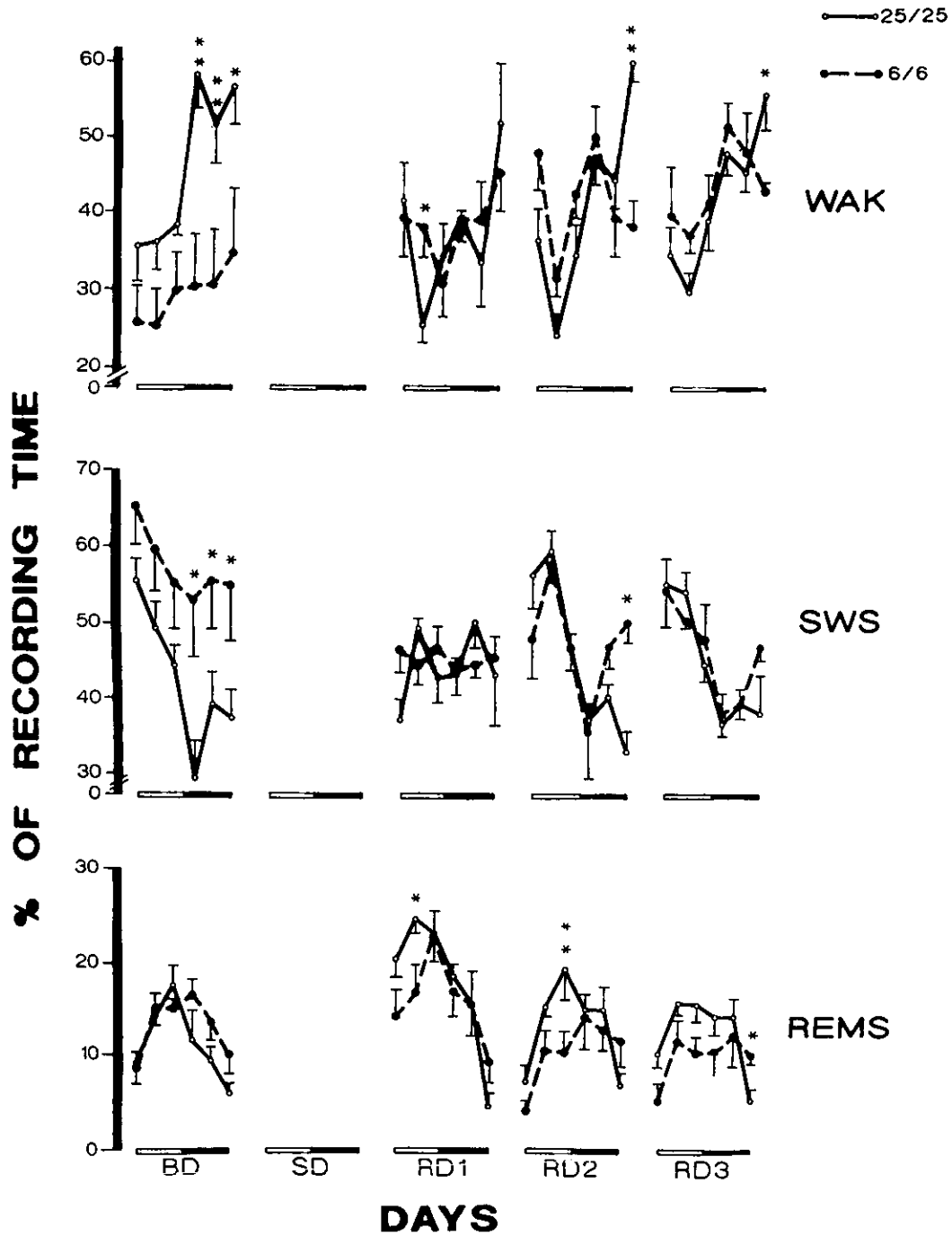


FIGURE 4 Effect of 24 h SD on vigilance states in control (25/25) and malnourished (6/6) rats. 25/25 versus 6/6 rats comparisons. Each point represents the mean % of recording time during six 4-h blocks on the BD and RD1-RD3. WAK, waking; SWS, slow wave sleep; REMS, rapid eye movement sleep. $n = 6$ animals. SE is indicated. Significant differences * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. ANOVA and Tukey *post-hoc* test.

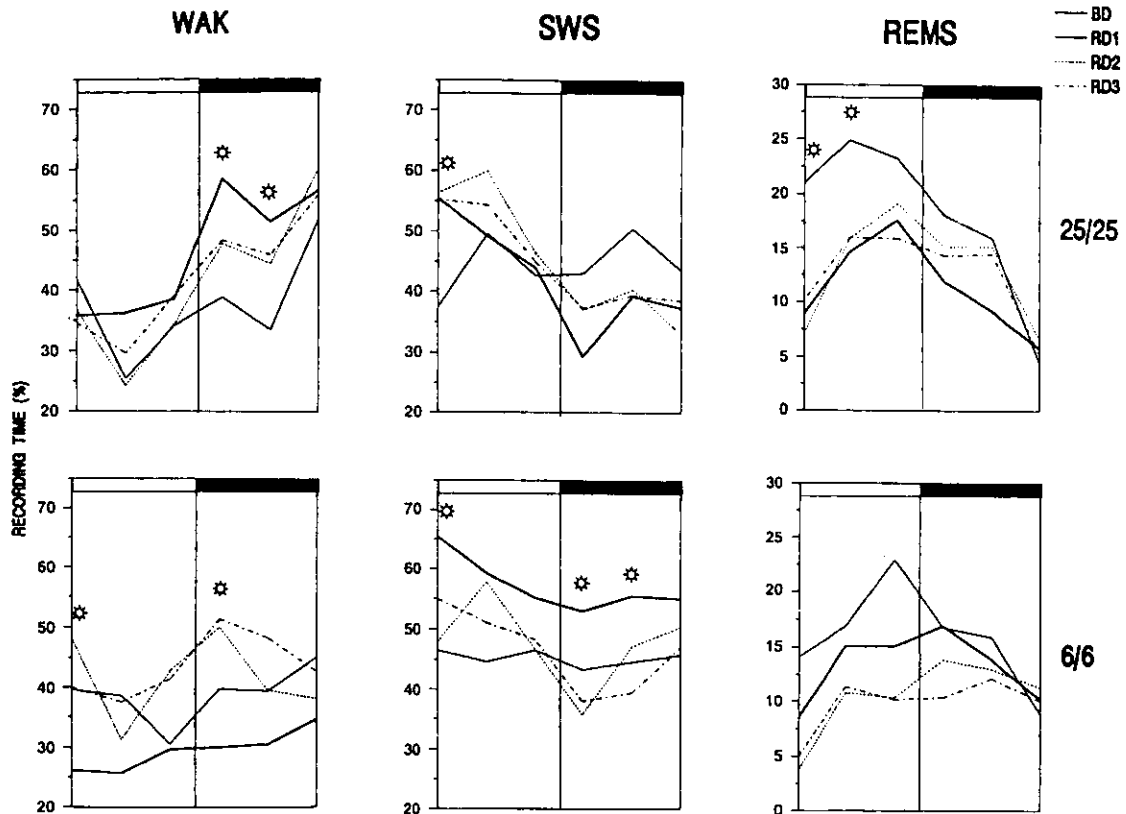


FIGURE 5 Effect of 24 h SD on vigilance states in control (25/25) and malnourished (6/6) rats. BD versus RDs comparisons. Each point represents the mean % of recording time during six 4-h blocks on the BD and RD1-RD3. WAK, waking; SWS, slow wave sleep; REMS rapid eye movement sleep. White and black bars up of each graphic represents 12h-light and 12h-dark $n = 6$ animals. SE is not indicated. Significant differences * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. ANOVA and Tukey *post hoc* test.

and 12–16 h blocks, when BD and RD1 were compared. Malnourished animals, in general, showed a reduced REMS rebound in comparison to control rats.

DISCUSSION

We found a significant body weight decrement produced by chronic protein malnutrition as had been reported previously in this model (Resnick *et al.*, 1982). Also this type of malnutrition, alters in an important manner the vigilance states of 30-day-old rats in the base-line recording day. Malnourished rats showed significant lower per-

centages of wakefulness than control rats in both, light and dark phases. By contrast, these rats had a significant higher percentage of SWS in both phases than controls. When REMS was evaluated, malnourished rats showed a significantly increased percentage during the dark phase only. The increased amount of sleep in malnourished rats could be due to several factors such as body composition, caloric value and amount of food consumed (Kanarek *et al.*, 1986). Also, it could be related to differences in metabolism, because it is known that the dark phase in rats represents a lipogenetic phase when fat is synthesized (Le Magnen, 1984; 1988). The light phase constitutes the lipolytic phase, in which fat is converted to

energy. Danguir and Nicolaidis (1980) demonstrated a possible dependence of circadian sleep and feeding patterns on lipogenesis and lipolysis cycles. An interesting finding of these authors is that epinephrine considerably augmented both SWS and REMS, and may indicate that epinephrine would favor the cellular utilization of the circulating metabolites of lipolytic origin. This finding is of interest, because it is known that rats in chronic malnutrition (6% or 8% casein diet) have a significant increase of serotonin and norepinephrine (Morgane *et al.*, 1978; 1993). Control rats displayed at this age, the characteristic phasic difference between the REMS values observed in the light and dark periods. Malnourished rats did not, and this indicates an alteration in their circadian distribution of REMS, probably as a compensatory homeostatic response to malnutrition effects on sleep and developmental retardation. We found that basal quantities of WAK, SWS and REMS are altered by protein malnutrition in rats of 30 days of age, possibly indicating an homeostatic compensatory response, which also interferes with and alters the circadian distribution of these vigilance states.

It is well known that during the early postweaning period of rats the temporal distribution and quantitative parameters of the vigilance states are both attained (Jouvet-Mounier *et al.*, 1970; Ibuka, 1984; Alföldi *et al.*, 1990). Jouvet-Mounier *et al.* (1970) stated that the vigilance states in rats undergo significant quantitative variations throughout the early postnatal period. Both, waking and slow wave activity percentages increase across the first 30 days of age, whereas REMS percentage decreases. Alföldi *et al.* (1990) determined that the temporal distribution pattern of each vigilance state displays circadian and quantitative changes from 23 to 40 days of age. They found REMS fraction of total sleep time (REMS/TST) declines across that period. Their 24-h maximum peak is situated in the first half of the dark phase between 23 and 29 days of age, but it occurs in the light period at 40 days of age as in adult rats. According to previous studies in

30-day-old rats, a physiological developing stage of intense sleep-wake pattern changes and can be affected by perinatal malnutrition. In this respect, Drucker-Colín *et al.* (1976) reported a reduction in REMS percentage during the rest period of protein-deprived adult rats (8% casein) and Forbes *et al.* (1977) showed significant increases of REMS during the activity or dark phase in comparison to rest phase values. These results indicate that temporal distribution of REMS of adult malnourished rats (fed pre- and postnatally with a 8% casein diet) were impaired. In the present study, we found similar changes using chronically malnourished rats (6% casein diet).

A study by our group (Cintra *et al.*, 1988) added evidence regarding the functional damage found in the circadian sleep-wake parameters due to chronic protein malnutrition in adult rats. We found in malnourished rats, abnormal increased amplitude values of the vigilance state's circadian rhythms. Moreover, when recordings were carried out in free running continuous darkness, acrophases of each vigilance state of malnourished rats displayed higher significant delays than they did in light-dark conditions.

It is known that the hypothalamic supra-chiasmatic nucleus is the neural substrate that regulates the circadian sleep-wake rhythm (Ibuka and Kawamura, 1975; Coindet *et al.*, 1975; Eastman *et al.*, 1984; Borbély *et al.*, 1983). To date, only few studies have analyzed the influence of malnutrition on circadian timing components. Aguilar-Roblero *et al.* (1997) found splitting in the circadian rhythm of drinking behavior. Cintra *et al.* (1994) reported evidence of reduction in the suprachiasmatic nucleus cells' somatic size in protein malnourished rats (6% and 8% casein), at several ages. We suggest that failure in the circadian distribution of vigilance states observed in our 30-days-old malnourished rats may be caused by a derangement in some component of the circadian timing system, probably by the reduction of the coupling force of oscillators that control vigilance states. In this respect, Herbert and Reiter (1981) found that pineal melatonin

production was increased during the dark phase and reduced in the light phase (in a light–dark cycle) of control and malnourished adult rats (8% casein diet). However, malnourished rats showed a lower pineal melatonin concentration than control animals. It is important to emphasize that either pineal melatonin (Zats, 1979; Moore-Ede *et al.*, 1983) or acetylcholine (Liu and Gillette, 1996) are involved in phase shifts phenomena of several physiological activities.

The importance of dietary protein supply for sleep stages in cats was analyzed in a study by Drucker-Colín *et al.* (1975). The peaks of the protein cycle corresponded to those periods in which the animal spends the greater percentage of time in REMS. Also, these authors showed that protein release is higher during REMS, when compared with periods of wakefulness (Drucker-Colín *et al.*, 1975). It has been documented that a chronic protein malnutrition protocol produces an increase of 5-HT and in its 5-HIAA metabolite product, as well as in the norepinephrine concentrations through the life span of rats (Stern *et al.*, 1975; Resnick *et al.*, 1982; Resnick and Morgane, 1983). In contrast, acetylcholine levels in protein-deprived rats, evaluated by bioassay technique, were diminished with respect to control animals (Rajalakshmi, *et al.*, 1974; Kulkarni and Gaitonde, 1982).

According to our results, it is perhaps difficult to suggest that the increased level of SWS percentages seen in protein malnourished rats were only produced by high concentrations of 5-HT which probably modulates the establishment of this frequency. However, malnutrition probably produces the hyperactivity found in these animals, which at 30 days of age show a significant increase of rapid frequency waves and a norepinephrine turnover in brown adipose tissue (BAT) metabolism. The primary function of BAT is thermogenesis (Tulp and Horton, 1981; Kevonian *et al.*, 1984). On the other hand, reduced acetylcholine concentrations might be an explanation for REMS variations during 24 h. In any case, this matter might be the subject of additional

studies, which analyze the effects of several neurotransmitters on the sleep–wake cycle in malnourished animals. The results of this study demonstrated that the significant differences between control and malnourished rats in WAK and SWS during basal day mainly appeared in the light–dark and dark–light transitions. These results are similar to those reported by Forbes *et al.* (1977) for REMS, and suggest that malnutrition diminish the capacity for light to modulate the occurrence of all vigilance states. When vigilance states were analyzed at each 12-h period of the recovery day one, REMS percentages showed a very important response in which malnourished rats had a lower significant compensatory rebound than control animals, particularly in the light phase (Figure 3). However, SWS showed a significant decrease instead of a sleep rebound in both phases. This suggests that malnutrition produce an important deleterious effect in the homeostatic control of SWS and REMS rebounds.

The contrast between BD data versus all RD's in each dietary condition demonstrated that the global response of the vigilance states after SD was more impaired in malnourished rats than in controls (Table I).

In conclusion, we can state that malnutrition significantly affects the homeostatic and circadian distribution of vigilance states in the active and rest phases. It also interferes mainly altering the normal mean quantity of each vigilance state during the recording time of both phases. Protein-deprived rats during recovery days, require more time than controls to reach base-line values. Physiological and homeostatic mechanisms of SWS and REMS rebound or compensatory increase are reduced by malnutrition in both sleep stages. These results suggest that malnutrition mainly disrupt two mechanisms of the sleep wake cycle: one that controls the homeostatic function of vigilance states, and another that controls its circadian rhythmicity. However, more detailed studies are necessary to confirm the damaging of homeostatic and circadian systems in protein-deprived rats.

Acknowledgments

This research was supported by Grants P219CCOA880341 from CONACyT. IN202891 and IN208494 from DGAPA-UNAM. PD was a Ph.D. fellow from DGAPA-UNAM; AG was Master's fellow from DGAPA-UNAM. Parts of these results were presented at the 20th Neuroscience Meeting with support of CONACyT grant N° A128CCOE901918, 2231 and 2232 (SA-7). Authors are indebted to Drs. Roberto A. Prado Alcalá, Edgar Heimer and Víctor Solís-Macías for critical reviewing and English improvement of manuscript. Also, to Dr. Eduardo Tena for special veterinary care of the animals.

References

- Aguilar-Roblero, R., Salazar-Juárez, A., Rojas-Castañeda, J., Escobar, C. and Cintra, L. (1997) Organization of circadian rhythmicity and suprachiasmatic nuclei in malnourished rats. *American Journal of Physiology (Reg. Int. Comp. Physiol.)* 42, 273, R1321-R1331.
- Alföldi, P., Tobler, I. and Borbély, A.A. (1990) Sleep regulation in rats during early development. *American Journal of Physiology (Reg. Int. Comp. Physiol.)* 27, 258, R634-R644.
- Borbély, A.A. (1978) Effects of light on sleep and activity rhythms. *Progress in Neurobiology* 10, 1-31.
- Borbély, A.A. and Neuhaus, H.U. (1978) Circadian rhythm of sleep and motor activity in the rat during skeleton photoperiod, continuous darkness and continuous light. *Journal of Comparative Physiology* 128, 37-46.
- Borbély, A.A., Baumann, F., Brandeis, D., Strauch, I. and Lehmann, D. (1981) Sleep-deprivation: effect on sleep stages and EEG power density in man. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 51, 483-493.
- Borbély, A.A., Tobler, I. and Hanagasioglu, M. (1984) Effect of sleep deprivation on sleep and EEG power spectra in the rat. *Behavioral Brain Research* 14, 171-182.
- Borbély, A.A., Tobler, I. and Groos, G. (1983) Sleep homeostasis and the circadian sleep-wake rhythm. In: Chase M. and Weitzman E. (Eds.), *Sleep Disorders: Basic and Clinical Research* (New York: Spectrum Publ. Inc). pp. 227-243.
- Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A. and Morgane, P.J. (1988) Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos* 36, 3-17.
- Cintra, L., Galván, A., Díaz-Cintra, S. and Escobar, C. (1994) Protein malnutrition on suprachiasmatic nucleus cells in rats of three ages. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos* 42, 11-19.
- Coindet, J., Chouvet, G. and Mouret, J. (1975) Effects of suprachiasmatic nuclei lesions on paradoxical sleep and slow wave sleep circadian rhythms in the rat. *Neuroscience Letters* 1, 243-247.
- Danguir, J. and Nicolaidis, S. (1980) Circadian sleep and feeding patterns in the rat: possible dependence on lipogenesis and lipolysis. *American Journal of Physiology (Endocrinol. Metab. 1)* 238, E223-E230.
- Dobbing, J. and Sands, J. (1971) Vulnerability of developing brain. IX. The effect of nutritional growth on the timing of the brain growth-spurt. *Biology of Neonate* 19, 363-378.
- Drucker-Colín, R.R., Shkurovich, M., Ugartechea, J.C., Domínguez, J. and Rojas-Ramírez, J.A. (1976) Sleep patterns in malnutrition. Society for the Psychophysiology Study of Sleep, *Proceedings 16th Annual meeting* p. 95.
- Drucker-Colín, R.R., Spanis, C.W., Cotman, C.W. and McLaugh, J.L. (1975) Changes in protein levels in perfusates of freely moving cats, relation to behavioral state. *Science* 187, 963-965.
- Eastman, C.I., Mistlberger, R.E. and Rechtschaffen, A. (1984) Suprachiasmatic nuclei lesions eliminate circadian temperature and sleep rhythms in the rat. *Brain Research* 101, 177-183.
- Forbes, W.B., Tracy, C.A., Resnick, O. and Morgane, P.J. (1977) Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Experimental Neurology* 57, 440-450.
- Friedman, L., Bergmann, B.M. and Rechtschaffen, A. (1979) Effects of sleep deprivation on sleepiness, sleep intensity, and subsequent sleep in the rat. *Sleep* 1, 369-391.
- Herbert, D.C. and Reiter, R.J. (1981) Influence of protein-caloric malnutrition on the circadian rhythm of pineal melatonin in the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 166, 360-363.
- Ibuka, N. (1984) Ontogenesis of circadian sleep-wakefulness rhythms and developmental changes of sleep in the altricial rat and in the precocial guinea pig. *Behavioral Brain Research* 11, 185-196.
- Ibuka, N. and Kawamura, H. (1975) Analysis of sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. *Brain Research* 96, 76-81.
- Jouvet-Mounier, D., Astic, L. and Lacote, D. (1970) Ontogenesis of the states of sleep in rat, cat and guinea pig during first postnatal month. *Developmental Psychobiology* 2, 216-239.
- Kanarek, R.B., Schoenfield, P.M. and Morgane, P.J. (1986) Maternal malnutrition in the rat: effects of food intake and body weight. *Physiology and Behavior* 38, 509-515.
- Kevonian, A.V., Vander Tuig, J.G. and Romsos, D.R. (1984) Consumption of a low protein diet increases norepinephrine turnover in brown adipose tissue of adult rats. *Journal of Nutrition* 114, 543-549.
- Kulkarni, A.B. and Gaitonde, B.B. (1982) Effects of early undernutrition and subsequent rehabilitation on acetylcholine in rat brain. *Experientia* 38, 377-378.
- Le Magnen, J. (1984) Metabolic and feeding patterns: role of sympathetic and parasympathetic efferent pathways. *Journal of the Autonomic Nervous System* 10, 325-335.
- Le Magnen, J. (1988) Lipogénèse, lipolyse et rythmes alimentaires. *Annales d'Endocrinologie (Paris)* 49, 98-104.
- Liu, C. and Gillette, M.U. (1996) Cholinergic regulation of the suprachiasmatic nucleus circadian rhythm via a muscarinic mechanism at night. *Journal of Neuroscience* 16(2), 744-751.
- Moore-Ede, M.C., Czeisler, C.A. and Richardson, G.S. (1983) Circadian timekeeping in health and disease. *New England Journal of Medicine* 309, 469-476; 530-536.
- Morgane, P.J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, J., Hawrylewicz, E. and Resnick, O. (1978) The effects of protein malnutrition on the developing of central nervous system in the rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2, 137-230.

- Morgane, P.J., Austin-La France, R.J., Bronzino, J.D., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. and Galler, J.R. (1993) Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **17**, 91–128.
- Rajalakshmi, R., Kulkarni, A.B. and Ramakrishnan, C.V. (1974) Effects of preweaning and postweaning undernutrition on acetylcholine levels in rat brain. *Journal of Neurochemistry* **23**, 119–121.
- Resnick, O. and Morgane, P.J. (1983) Animal models for small-for-gestational age (SGA) neonates and infants-at-risk (IAR). *Developmental Brain Research* **10**, 221–225.
- Resnick, O., Morgane, P.J., Hasson, R. and Miller, M. (1982) Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **6**, 55–75.
- Rosenberg, R.S., Bergmann, B.M. and Rechtschaffen, A. (1976) Variation in slow wave activity during sleep in the rat. *Physiology and Behavior* **17**, 931–938.
- Sherwood, N.M. and Timiras, P. (1970) *A Stereotaxic Atlas of the Developing Rat Brain* (California: University of California Press).
- Stern, W.C., Liller, M., Forbes, W.B., Morgane, P.J. and Resnick, O. (1975) Ontogeny of the levels of biogenic amines in various parts of the brain and in peripheral tissues in normal and protein malnourished rats. *Experimental Neurology* **49**, 314–326.
- Tulp, O.L. and Horton, E.S. (1981) Effects of prolonged experimental protein malnutrition and refeeding on growth, adipose tissue development and body composition in rats. *Journal of Nutrition* **111**, 1145–1156.
- Zatz, M. (1979) Photoentrainment, pharmacology and phase shifts of the circadian rhythm in the rat pineal. *Federal Proceedings* **38**, 2596–2601.