

03068



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
UNIDAD ACADEMICA DE LOS CICLOS  
PROFESIONAL Y DE POSGRADO

**EFFECTOS DE LA PRIVACION TOTAL DE SUEÑO EN  
RATAS CON DESNUTRICION PROTEINICA CRONICA**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
P R E S E N T A E L  
M.V.Z. AGUSTIN JUAN GALVAN ROSAS

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS  
TUTOR DE TESIS: DR. LEON F. CINTRA McGLONE



UNAM-CCH

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

AGOSTO DE 1993



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## INDICE

<b>Resumen</b> .....	i-ii
<b>Introducción</b> .....	1-29
Desarrollo cerebral.....	2-8
Neurotransmisores durante la desnutrición.....	8-10
Desarrollo de la actividad cerebral.....	10-11
Aspectos generales del sueño desarrollo.....	12
Ritmo circadiano.....	13-14
Características electrográficas de los estados de vigilancia.....	14-17
Reseña histórica del conocimiento de las bases anatómicas de los estados de vigilancia.....	18-19
Control de los estados de vigilancia.....	19-20
Regulación del ciclo de sueño y vigilia.....	20-21
La privación de sueño como instrumento para el estudio del sueño.....	21-28
<b>Hipótesis y Objetivos</b> .....	28-29
<b>Métodos</b> .....	30-34
<b>Resultados</b> .....	35-46
<b>Discusión</b> .....	47-58
<b>Conclusiones</b> .....	59
<b>Perspectivas</b> .....	60-62
<b>Apéndice</b> .....	63-64
<b>Bibliografía</b> .....	65-76

## RESUMEN

*En la actualidad, se sabe que la desnutrición produce alteraciones severas sobre la integridad estructural y funcional de los seres vivos, en particular en el desarrollo del Sistema Nervioso Central. No obstante, se sabe que el daño depende de la conjunción de diversos factores, como la intensidad y el tipo de desnutrición empleados, del momento de desarrollo cerebral en que ésta es padecida y de la interacción de la desnutrición con los factores psico-sociales.*

*Por otro lado, desde hace algunas décadas, el ciclo de sueño y vigilia ha sido considerado como un buen indicador del funcionamiento del organismo. Asimismo, se sabe que está regulado tanto por un factor circadiano neural endógeno así como por un factor homeostático basado en la necesidad fisiológica del sueño, y que la interacción de ambos se expresa en el ciclo de sueño y vigilia. Al respecto, la privación del sueño ha sido una estrategia experimental importante para el análisis de la regulación homeostática del sueño y la búsqueda experimental de las funciones del sueño.*

*Previamente, varios estudios determinaron que la desnutrición experimental ligera en ratas adultas produce ciertas modificaciones en algunos de los parámetros del ciclo de sueño y vigilia. De modo que el interés del presente estudio, es el analizar el ciclo de sueño y vigilia en ratas jóvenes controles y desnutridas hipoproteínicamente, y además evaluar la homeostasis de los estados del sueño después de un periodo de privación total por locomoción forzada.*

*En el presente estudio se investigó el efecto de la desnutrición proteínica crónica en ratas jóvenes desnutridas, antes y después de un periodo de privación total de sueño. Se provocó la desnutrición hipoproteínica crónica en ratas empleando dos dietas con un contenido diferente en proteína (25% y 6% de caseína) a dos grupos de hembras, antes del apareamiento, durante la gestación y a lo largo de la lactancia. Las crías de cada grupo experimental (control y desnutrido) continuaron consumiendo la dieta correspondiente hasta el término del experimento. Se obtuvieron registros electrocorticográficos y electromiográficos de los estados de vigilancia (vigilia, sueño de ondas lentas y sueño de movimientos oculares rápidos) en seis ratas macho de 30 y 60 días de edad en cada grupo experimental, durante un día basal y tres días de recuperación posteriores a un periodo de privación total de sueño por la técnica del cilindro rotatorio.*

*A partir de los resultados, se encontró que en condiciones basales de registro (día 1), las ratas desnutridas de ambas edades tuvieron una mayor cantidad de SOL.*

*y menor de VIG en comparación con los controles, tanto en la fase de reposo como en la fase de actividad. Asimismo, los animales desnutridos tuvieron una alteración en la diferencia porcentual del SMOR en la fase de reposo y de actividad, siendo ésta una variación nictemeral del SMOR en estos sujetos experimentales.*

*Por otra parte, también se encontró que, posterior a la privación de sueño, la respuesta fisiológica de los sujetos desnutridos estuvo alterada principalmente en las ratas de 30 días de edad. El menor "aumento compensatorio" del SMOR fue el efecto detrimental más persistente en las ratas desnutridas. Además, los principales cambios debidos a la edad en los estados de vigilancia, se presentaron en el periodo de luz.*

*De acuerdo a estos resultados, se concluyó que la desnutrición hipoproteínica provoca un retraso en la maduración de los estados de vigilancia, manifestándose por las modificaciones observadas en el componente homeostático y circádico del sueño en las ratas de ambas edades con desnutrición proteínica.*

## INTRODUCCION

Desde hace algunos años el problema de la desnutrición en las poblaciones humanas se ha agudizado en los países subdesarrollados, así como también en los desarrollados, debido a factores biológicos, psicológicos, sociológicos y políticos sumamente complejos, que han estado latentes durante varias generaciones.

Se conoce que la desnutrición padecida en el desarrollo de los individuos produce alteraciones en el organismo en general y en el Sistema Nervioso Central (SNC) en particular, y de acuerdo a la naturaleza de la deficiencia en el organismo, las secuelas en su desarrollo conductual e intelectual serán de intensidad variable. Las evidencias actuales indican que durante el desarrollo cerebral de los mamíferos, el cerebro es muy susceptible a ciertos factores ambientales nocivos como la desnutrición, el alcohol, las drogas, etc. (Dyson y Jones, 1976), ya que durante el desarrollo cerebral prenatal y posnatal ocurren numerosos fenómenos, entre ellos la neurogénesis, la migración, la organización y la formación de circuitos neuronales, que son eventos necesarios para las diversas funciones integrativas, como el sueño y la memoria.

Para analizar como ocurre la rehabilitación nutricional en los seres humanos desnutridos, se han realizado estudios de desnutrición perinatal en animales experimentales, dada la limitante de orden ético para la experimentación en el hombre, se han intentado examinar de manera comparativa sus efectos en las diversas etapas del desarrollo cerebral en otros mamíferos. Sin embargo, es necesario realizar previamente estudios de desnutrición pre y posnatal, que permitan caracterizar en el sustrato neural de ciertas funciones integrativas como el sueño y la

memoria, aquellas alteraciones anatómicas, fisiológicas o bioquímicas debidas a la desnutrición, o bien, en aquellos modelos neuronales conocidos como el hipocampo, a lo largo del ciclo de vida de los animales, con la intención de determinar si las alteraciones producidas por la desnutrición pre y posnatal pueden ser revertidas o atenuadas realizando la rehabilitación nutricional posnatal (Morgane y cols., 1978, 1990, 1992, 1993).

Se sabe que todos los nutrientes en cierta medida, tienen alguna influencia sobre la maduración del SNC, sin embargo el aporte de proteínas parece ser el más importante para el desarrollo de las funciones neurológicas.

Por otra parte, dada la naturaleza cíclica del fenómeno de sueño, se le ha considerado como un índice de la integridad funcional del organismo, y debido a que los mamíferos aún experimentan procesos de maduración en algunas de sus funciones en la etapa posnatal temprana, como en el sueño, realizamos un estudio electrofisiológico del efecto de la privación total de sueño en ratas jóvenes controles y desnutridas, intentando caracterizar los posibles efectos de la desnutrición proteínica pre y posnatal sobre los patrones electroencefalográficos (EEG) de sus estados de vigilia, del ciclo de sueño y vigilia y de su ritmicidad circadiana.

## DESARROLLO CEREBRAL

El desarrollo cerebral comprende la transformación gradual de los procesos biológicos que rigen la formación del cerebro. Durante el desarrollo suceden cambios secuenciales de gran importancia, tales como la generación neuronal (neurogénesis y gliogénesis), la migración y diferenciación neuronal, el crecimiento neuronal (de las arborizaciones dendríticas y de la extensión axonal), la

mielinización, la sinaptogénesis y la formación de circuitos neurales; y por otra parte, también se origina la síntesis y la liberación de neurotransmisores y la muerte celular selectiva.

Algunos de estos procesos son regulados genéticamente, por ejemplo el crecimiento y la diferenciación neuronal, sin embargo otros muestran cierta susceptibilidad a los factores ambientales nocivos como la desnutrición, los fármacos, las hormonas, etc.

Aunque en diversos estudios se ha simplificado la secuencia de estos procesos del desarrollo, pueden ocurrir uno después de otro, presentarse de manera sobrepuesta, o bien, suceder de manera simultánea. Sin embargo, se ha sugerido que la secuencia y el momento en que acontecen estos procesos del desarrollo cerebral varían de una especie a otra, así como también, entre las diversas estructuras cerebrales.

A partir de los estudios de Dobbing y su grupo (1968a,b, 1970, 1972, 1990) se postuló el concepto de "periodo vulnerable", en el cual durante el desarrollo cerebral existe un lapso de crecimiento cerebral rápido (brain growth spurt).

Este concepto marcó la pauta para la realización de estudios subsecuentes, investigando diversos fenómenos durante el desarrollo del SNC, así como también en relación a los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo cerebral.

Según sus estudios, el "crecimiento cerebral rápido", es el lapso en el cual ocurre la máxima susceptibilidad cerebral a ciertos factores nocivos, ya que los procesos que ocurren durante este tiempo son sumamente lábiles.

Cuando analizaron las curvas de crecimiento cerebral en las diversas especies, notaron que éstas se comportaban de manera diferente (Dobbing y Sands, 1979).



En todas las especies, el periodo de "crecimiento cerebral rápido" se inicia cuando se ha generado el número total de neuronas. De manera que en el ser humano, este periodo sucede entre el último trimestre de la gestación y el periodo posnatal temprano (primeros 2 años de edad). En cambio, en la rata este periodo comprende el primer mes de vida.

Durante el periodo de crecimiento cerebral rápido en la rata, ocurre principalmente la diferenciación neuronal de las poblaciones celulares generadas prenatalmente, así como también la generación y diferenciación de la oligodendroglía, y además, la mielinización. En términos de desarrollo, al nacimiento, en los roedores se inicia su periodo de crecimiento cerebral rápido. De acuerdo al patrón de crecimiento cerebral en las diversas especies, Dobbing y Sands (1979) denominaron "especies precoces", a quienes experimentan su desarrollo cerebral prenatalmente, y como "especies altriciales" a las que experimentan este desarrollo de manera posnatal.

Fue así como los conceptos generados por el grupo de Dobbing fueron de gran utilidad en numerosos estudios subsecuentes, entre ellos los de desnutrición, donde se tomó a este periodo como el punto de referencia para la determinación experimental del efecto de ciertos factores nocivos sobre el desarrollo del SNC de los mamíferos.

Por otra parte, en diversos estudios se ha hecho mención del concepto de "periodo crítico" que, de acuerdo a varios autores, denota cambios circunscritos en muchos parámetros neuronales (Herschkowitz y Rossi, 1972, Scott, 1979, Colombo, 1982) que son de naturaleza secuencial y sobrepuesta (Rodier, 1976, 1980). A los

eventos en los cuales un factor nocivo ejerce sus efectos marcadamente, se les ha denominado "periodos vulnerables o críticos".

De acuerdo a la susceptibilidad de los sujetos durante el desarrollo cerebral, se ha señalado la existencia de múltiples periodos vulnerables, donde la neurogénesis, la gliogénesis o la migración neuronal se consideran como tales, ya que tienen un lapso de expresión mayor en un momento dado durante el desarrollo de cada una de las áreas cerebrales. Se ha mencionado que no sólo existe un periodo vulnerable (posnatal) durante el desarrollo cerebral, sino que existen varios que pueden ser pre y/o posnatales. Asimismo, se ha mencionado que quizás los que ocurren prenatalmente son de mayor importancia, debido a que en ellos suceden los periodos de neurogénesis máxima, que difieren en cada una de las estructuras cerebrales (Fig. 1), así como también difieren los periodos de migración neuronal. Cuando se pondera la importancia de los fenómenos que ocurren prenatalmente (neurogénesis y migración neuronal) contra aquellos que suceden posnatalmente (crecimiento rápido, diferenciación), se ha mencionado que tal vez los primeros sean de mayor importancia para la función cerebral subsecuente (Smart, 1990, 1991).

Recientemente han adquirido gran interés los estudios en los que se determinan los rangos de neurogénesis prenatal en las estructuras cerebrales, ya que en los estudios donde se aplican ciertos agentes nocivos durante la etapa prenatal, éstos quizás causen la pérdida de células nerviosas o el fracaso en la migración neuronal, provocando con ello la disminución en el número de las sinápsis y la alteración en la ya de por sí compleja circuitería neuronal.

La posibilidad de abordar experimentalmente el "nacimiento" de las neuronas durante el desarrollo cerebral, se logró mediante la aplicación del método de

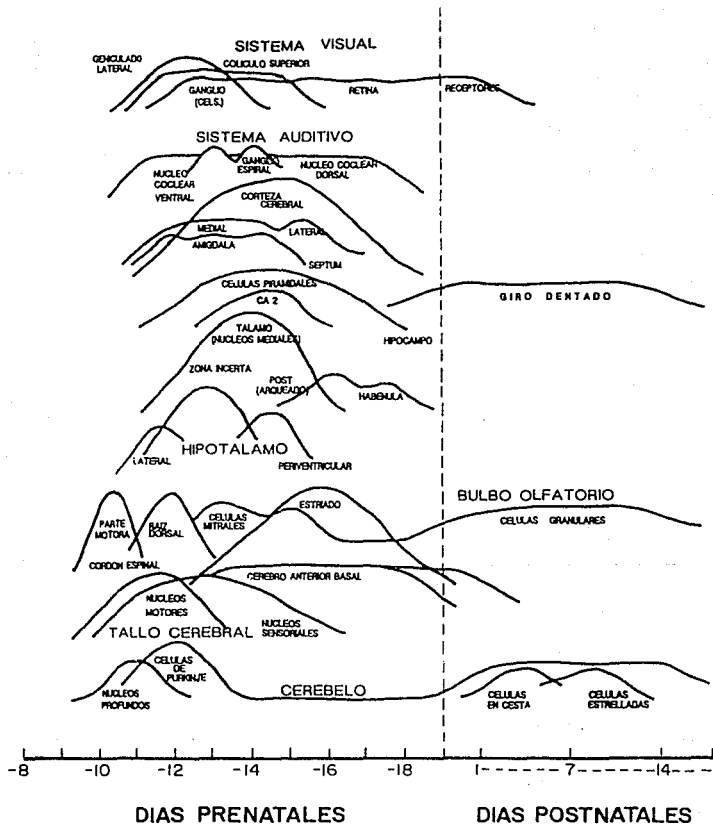


Fig. 1 Cronología de los periodos de generación neuronal en diversas regiones del SNC del ratón. El trazo vertical indica el momento del nacimiento (Modificado de Rodier, 1980).

autoradiografía con timidina tritiada, impulsando con ello la investigación neuroembriológica (Miale y Sidman, 1961, Angevine y Sidman, 1961). El método permite precisar la fecha de la diferenciación neuronal, que se define por el cese de la proliferación celular (detención del marcaje de las neuronas). Además, permite delinear exactamente el inicio y el término de la neurogénesis; así como también la proporción de neuronas producidas durante cada uno de los días embrionarios (Bayer y Altman, 1987).

Por otra parte, además de esta técnica, otras han permitido investigar diferentes aspectos del desarrollo del SNC de los mamíferos. La técnica de inmunohistoquímica junto con los métodos farmacológicos, han hecho posible la determinación del tipo de células nerviosas de diversas áreas del SNC en desarrollo, de acuerdo a la sustancia producida en su interior. De esta forma se ha establecido el origen de las estructuras que integran los sistemas de transmisión neuronal. Así, por ejemplo, el origen del sistema de neurotransmisión monoaminérgica ocurre entre los 10 y 13 días de la gestación en la rata (Lauder y Bloom, 1974), del sistema colinérgico entre los 12 y 16 días gestacionales (Semba y Fibiger, 1988), además los sitios de enlace muscarínicos en el SNC aparecen antes del día 14 de gestación de la rata (Schlumpf y cols., 1991), y el sistema serotoninérgico entre los 11 y 15 días de la gestación (Lauder y cols., 1982, Wallace y cols., 1982).

Por otro lado, los estudios electrofisiológicos empleando la técnica del registro de la actividad multiunitaria o de actividad unitaria efectuados en ciertas especies de mamíferos en desarrollo, han contribuido a determinar el inicio de la función en diversos grupos neuronales. Algunas de las estructuras involucradas en

el fenómeno del sueño que han sido investigadas con esta técnica son: las células del núcleo del rafe dorsal de la rata, quienes entre los 3 y 6 días posnatales ya presentan un patrón de descarga neuronal similar al de los sujetos en etapas maduras (Gallager, 1982, Lamfumey y Jacobs, 1982); en las células del núcleo locus coeruleus de la rata neonata (1-3 días de edad) la actividad neuronal está gobernada por los estímulos sensoriales (Kimura y Nakamura, 1985); en la formación reticular pontina el patrón de actividad neuronal durante la vigilia activa y el sueño activo aparece al inicio de la segunda semana posnatal de la rata (Corner y Bour, 1984) y en el núcleo supraquiasmático el ritmo circadiano de la actividad neuronal se establece entre los 11 y 14 días posnatales (Shibata y cols., 1983).

Es importante conocer el periodo en el que sucede la generación neuronal de las estructuras del tallo cerebral, diencefalo, cerebro anterior y telencefalo, debido a su participación en la generación y regulación de ciertos fenómenos funcionales corporales, como el sueño, ya que el curso adecuado de estos procesos del desarrollo cerebral, repercutirá en buena medida en la integridad del sustrato neural de las estructuras y circuitos del sueño, y en consecuencia en sus estados de vigilancia.

La figura 1, fue elaborada de acuerdo a numerosos estudios autoradiográficos, tratando de determinar los periodos de generación de las neuronas de algunas áreas cerebrales del ratón, donde se observa que de acuerdo a la ubicación de las estructuras (tallo cerebral, mesencefalo, diencefalo y telencefalo) el inicio de la generación neuronal será en un momento temprano o tardío de la etapa prenatal.

En la actualidad, es común encontrar en los estudios sobre desarrollo cerebral el término "timing", que denota el tiempo o el momento en que sucede el nacimiento de las células, la concepción o el inicio de cierta etapa importante en el

desarrollo cerebral. En relación a lo anterior, algunos términos se han empleado de manera indistinta, sin embargo su significado y sus implicaciones son diferentes. El término "periodo sensible" se refiere a los aspectos del desarrollo que suceden en un lapso con mayor facilidad; "periodo crítico" se ha interpretado como un estado de crisis que es apropiado sólo en ciertas condiciones experimentales, y finalmente, el concepto "periodo vulnerable" se refiere a las consecuencias dañinas e ignora la posibilidad inversa, es decir, que probablemente también sea un momento oportuno para resaltar el potencial del desarrollo (Smart, 1991).

Sin embargo, el término quizás mas adecuado para indicar los procesos que estan más relacionados con la etapa del desarrollo (pre y posnatal), es el de "periodo sensible", ya que respecto al nacimiento, varían mucho los procesos que ocurren en el desarrollo cerebral de los mamíferos.

## NEUROTRANSMISORES DURANTE LA DESNUTRICION

Se sabe que la concentración de algunos aminoácidos cerebrales varía durante el desarrollo de los sujetos, observándose elevada en el cerebro inmaduro y disminuída desde la edad del destete hasta valores similares a los observados en los sujetos adultos (Agrawal y cols., 1966a). Asimismo, la síntesis de ciertos neurotransmisores cerebrales puede ser modificada de acuerdo a la disponibilidad de sus precursores en la dieta. De manera que es muy importante el suministro del sustrato para la síntesis de los neurotransmisores, al menos para cinco de ellos.

Tanto la serotonina (Fernstrom, 1983), la histamina (Enwonwu y Worthington, 1974) y la glicina (Maher y Wurtman, 1980) requieren de los aminoácidos esenciales triptofano, histidina y treonina, respectivamente. En tanto que las catecolaminas requieren del aminoácido semi-esencial tirosina o la

fenilalanina (Wurtman y cols., 1974, Gibson y Wurtman, 1977). A su vez, la acetilcolina requiere de la colina como precursor, aunque ésta puede ser sintetizada en el cerebro (Blusztajn y Wurtman, 1981), sin embargo la disponibilidad de la colina en la dieta y en el plasma, también influyen en la síntesis de la acetilcolina (Cohen y Wurtman, 1976).

Se ha demostrado que la desnutrición perinatal altera las concentraciones de ciertos neurotransmisores involucrados en la regulación del sueño. Sin embargo, los diversos estudios llevados a cabo hasta el momento, han proporcionado resultados controversiales, debido quizás al método de desnutrición aplicado, a la técnica empleada para la determinación del neurotransmisor (NT) y/o a la edad de los sujetos.

Los diversos estudios neuroquímicos han considerado importantes algunos puntos para la interpretación adecuada de los datos, que son los siguientes:

- Durante el desarrollo cerebral, la elaboración de los procesos neuronales está asociada con un aumento de la actividad enzimática, así como un aumento de la actividad en diversos receptores de neurotransmisores en las diferentes regiones cerebrales (Enna y cols., 1976).
- Durante el desarrollo, los procesos estructurales, enzimáticos y metabólicos no cambian en la misma proporción ni en la misma dirección.
- Ciertas etapas metabólicas son afectadas en diferente grado, de modo que su patrón de respuesta depende del estado del desarrollo cerebral del sujeto.
- La validez de las estimaciones de ciertos neurotransmisores, cuantificadas en el cerebro entero, quizás puedan enmascarar los cambios experimentados estimados en regiones específicas del cerebro (Silver, 1974).

- La concentración de los neurotransmisores cerebrales depende de la disponibilidad de los aminoácidos precursores respectivos.
- La respuesta de los procesos bioquímicos a los estímulos nocivos es heterogénea durante el desarrollo cerebral pre o posnatal.
- Las diferencias observadas en los diversos estudios de desnutrición en la concentración de los neurotransmisores cerebrales puede deberse al método de desnutrición aplicado y a la severidad del mismo.
- Los niveles de aminas biogénicas cerebrales pueden afectarse por los cambios en la concentración de las proteínas de la dieta.

#### DESARROLLO DE LA ACTIVIDAD CEREBRAL

Sabemos que la manifestación funcional de ciertas actividades corporales experimentan modificaciones durante el desarrollo de las numerosas especies de mamíferos. La actividad electroencefalográfica es uno de los fenómenos en los cuales ocurren cambios ontogenéticos que reflejan el desarrollo de los circuitos internos y la maduración sináptica de las estructuras que participan en esta actividad. En ciertos estudios se ha analizado este aspecto desde diversos puntos de vista. Salas y Cintra (1975) analizaron el desarrollo del electrocorticograma (ECoG) de ratas bajo ciertas condiciones experimentales, encontrando que la actividad del ECoG normal registrada de las cortezas frontal, temporal y occipital se desarrolla a partir del 5o. día de vida posnatal, mostrando además ciertas características de interés como la presencia de ondas lentas de baja amplitud con rango de 1-5 ciclos por segundo (cps) con una frecuencia dominante entre los 6 y 8 Hz, y el aumento progresivo en la proporción de la actividad rápida en el rango de 10 a 20 cps entre los 7 y 11 días posnatales que estuvo asociado con la amplitud



aumentada. Además, mostraron que a los 18 días posnatales, el ECoG de las ratas ya presenta características semejantes al observado en los sujetos adultos. Tanto el rango como la distribución de las frecuencias también sufrieron ciertos cambios entre los 5 y 16 días de edad, posteriormente el curso de estos cambios fue más lento (18 a 30 días).

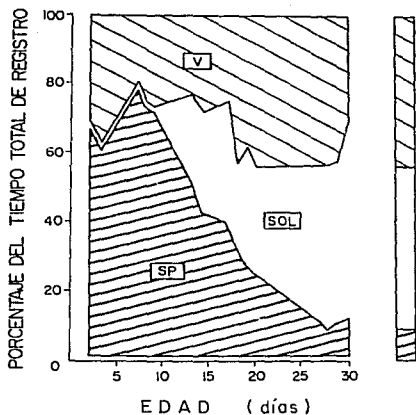
En un estudio similar, Gramsbergen (1976) analizó el desarrollo del EEG de la corteza sensorial motora y visual de ratas de 9 a 30 días de edad, relacionando estos patrones del EEG con un determinado estado conductual, encontrando que entre los 10 y 13 días de edad el electroencefalograma (EEG) muestra una elevada amplitud que corresponde a un patrón conductual con respiración regular, sin movimientos corporales y párpados abiertos (en el día 14 de edad). Además, observó que a partir del día 18 de edad el EEG de los sujetos no muestra diferencias con aquel de las ratas adultas, como Salas y Cintra (1975) lo habían señalado previamente.

## ASPECTOS GENERALES DEL SUEÑO

### DESARROLLO

Sin duda, el estudio de Jouvett-Mounier y cols. (1970) acerca de las características poligráficas y conductuales de los estados del sueño durante el primer mes de vida de varias especies de mamíferos, ha sido de gran importancia al aportar datos de interés acerca de la ontogenia de los estados de sueño. En la rata, en particular, encontraron que a los 8 días de edad el ECoG exhibe amplitud elevada y frecuencia rápida durante el sueño paradójico (SP) o sueño MOR (SMOR); en tanto que los primeros signos del sueño de ondas lentas (SOL) los observaron entre los 11 y 13 días de edad de la rata (Fig. 2). De acuerdo a los hallazgos en las diversas especies analizadas, sugirieron que a mayor grado de inmadurez del SNC al nacimiento mayor será el tiempo en que permanecerán en SMOR en la etapa temprana del desarrollo.

Recientemente, Alföldi y cols. (1990) realizaron un estudio electrofisiológico de los estados del sueño en ratas de 23, 29 y 40 días de edad aplicando el análisis del espectro electroencefalográfico de frecuencias a los estados de vigilancia, en el que mostraron que a los 23 días de edad de la rata, la vigilia (VIG) se presenta principalmente en el periodo de oscuridad; el SMOR disminuye entre los 23 y 40 días de edad, exhibiendo además su valor máximo durante el periodo de oscuridad en las ratas de los 23 a los 29 días y durante el periodo de luz, a la edad de 40 días de los sujetos; y finalmente, la actividad del EEG de ondas lentas o sueño no MOR (Sueño NMOR) mostró marcados cambios debidos a la edad: a los 23 días de edad estuvo ausente su tendencia descendente durante el periodo de luz, fue moderada a los 29 días y bien definida a los 40 días de edad.



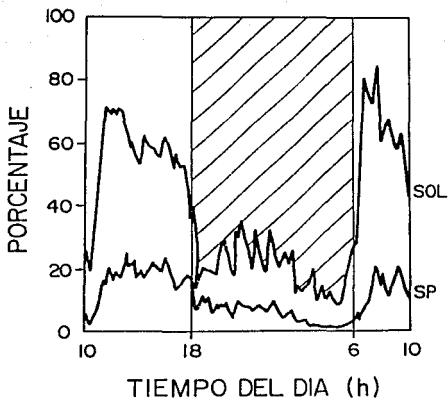
**Fig. 2** Cambios en el porcentaje promedio de la vigilia (V), sueño de ondas lentas (SOL) y sueño paradójico (SP) durante el primer mes de vida de la rata. Los datos se tomaron a partir 8 horas de registro. En la columna de la derecha se muestran los porcentajes de ratas adultas en registros de 24 horas. (Tomado de Jouvet-Mounier y cols., 1970).

## RITMO CIRCADIANO

Por otra parte, en relación a los ritmos circadianos de los estados de vigilancia en ratas, diversos estudios han mostrado que están fuertemente influenciados por los ciclos de luz y oscuridad (LO), a quienes se les denomina "zeitgebers o sincronizadores".

La alternancia diaria de los ciclos de LO, sincroniza los ritmos circadianos de la conducta a la duración del periodo de LO (de aproximadamente 24 horas), entre ellos los del ciclo de sueño y vigilia (Bünning, 1973). Se sabe que la rata, es un animal policíclico de hábitos nocturnos, es decir, que su actividad normal la realiza durante la mayor parte del periodo de oscuridad, en tanto que permanece en sueño durante la mayor parte del periodo de iluminación, aunque también duerme durante la fase oscura. Hace algún tiempo se pensaba que la rata exhibía dos conductas diferentes: una activa en la fase de oscuridad y otra inactiva durante la fase de luz, sin embargo, estudios más detallados han revelado que la actividad de la rata no está distribuida uniformemente en el periodo de oscuridad, sino que se encuentran periodos de máxima actividad o "picos" al inicio y/o al término de la fase de oscuridad (vespertino y matutino), que son igualmente grandes (Fig. 3)(Borbély, 1978). Este mismo patrón de actividad se ha observado en una gran variedad de especies (Aschoff, 1957; citado por Borbély, 1978).

Los porcentajes de vigilia y de actividad motora en la rata, normalmente exhiben un pico máximo al término de la fase de oscuridad y un nivel mínimo al inicio de la fase de luz. Se ha encontrado que tanto en la rata como en el hombre, el inicio del periodo de inactividad o fase de reposo está caracterizado por la disminución de la actividad motora (Kleitman, 1963, Borbély y Neuhaus, 1979) y el



**Fig. 3** Variación nictemeral de los estados de vigilancia de la rata durante un programa de luz-obscuridad (LO) 12: 12 horas. El área delimitada con líneas inclinadas, entre las 18 y 6 horas, indica el periodo de obscuridad. Abreviaturas: h, horas; SOL, sueño de ondas lentas; SP sueño paradójico. (Tomado de Borbély, 1975).

aumento del porcentaje de SOL (Webb y Agnew, 1971, Borbély y Neuhaus, 1979) o actividad electroencefalográfica de ondas lentas (Rosenberg y cols., 1976).

Además, se ha observado que al transcurrir la fase de reposo (periodo de luz) disminuye el SOL (Trachsel y cols., 1988), en tanto que aumenta el porcentaje de SP en relación al sueño total (Fig. 3 y 4)(Borbély y cols., 1975). Estas observaciones han indicado la existencia de diferencias de fase similares entre los ritmos circadianos de los estados de SOL y SP, tanto en el humano como en la rata (Fig. 4)(Borbély, 1978).

Ibuka (1984), realizó un estudio acerca de la ontogenia de los ritmos circadianos del sueño y la vigilia en la rata y el cobayo. Específicamente en la rata, encontró, que durante un ciclo de LO normal de 12:12 horas y de iluminación constante, el ritmo se establece 4 semanas después del nacimiento. Asimismo, encontró aumentado el periodo de SOL y los ciclos de SMOR, así como la cantidad de SOL por día. La cantidad de SMOR y la duración de los episodios disminuyó.

#### CARACTERISTICAS ELECTROGRAFICAS DE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA

Desde hace algún tiempo, existe un acuerdo general respecto a que los diversos estados de vigilancia se caracterizan con base en tres correlatos fisiológicos, que son: la actividad de la onda cerebral (electroencefalograma o EEG), los movimientos oculares (electro-oculograma o EOG), y el tono muscular (electromiograma o EMG). De acuerdo a estos, Timo-Iaria y cols. (1970) describieron los patrones poligráficos de los estados del sueño durante la fase de reposo de un grupo de ratas adultas, encontrando que durante el estado de vigilia o estado de alerta, el ECoG de las ratas exhibió un patrón desincronizado en la

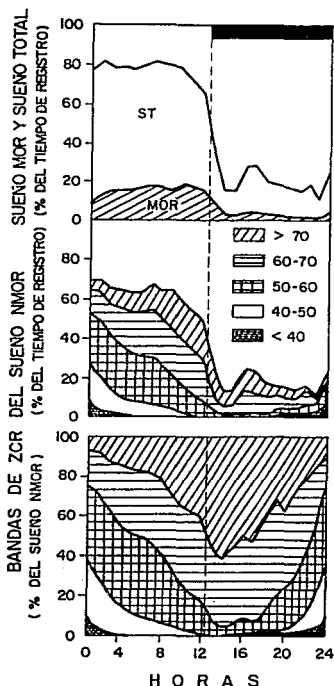


Fig. 4 Distribución diaria de los estados de sueño. Las curvas representan los valores promedio de dichos estados en cada hora de ratas en el día control. La línea vertical interrumpida delimita la fase de luz (izquierda) y de oscuridad (derecha). La gráfica superior indica el sueño total (ST) y el sueño MOR (MOR) expresados como porcentaje del tiempo de registro. El porcentaje de vigilia está representado por la diferencia entre ST y el valor de la abscisa (100). La gráfica intermedia describe el sueño NMOR (curva superior) expresada como el porcentaje del tiempo de registro y subdividida en cinco bandas por el método "zero-crossing", como lo indican las claves de la derecha (los números representan el zero-crossing, por 10 segundos). Los valores descendentes (conforme transcurre el área de oscuridad) reflejan un creciente predominio de las frecuencias bajas del EEG. La gráfica inferior indica el sueño NMOR y las bandas zero-crossing expresadas como el porcentaje del sueño NMOR total (100%) (Tomado de Borbély y Neuhaus, 1979).

mayoría de las áreas registradas, cuyo rango de frecuencias fue de 30 a 40/seg y su amplitud de aproximadamente  $30\mu\text{V}$ , encontrando al mismo tiempo movimientos oculares ocasionales y tono postural en los músculos del cuello. Conforme los animales adquirían una conducta de reposo, aparecía un patrón ECoG lento, principalmente en las áreas frontal y parietal. Al iniciar el estado de sueño, observaron un patrón de aparición de ondas lentas irregular y espigas de sueño, su frecuencia fluctuó entre 6 y 25/seg y su amplitud fue de 50 a  $300\mu\text{V}$ . Al transcurrir el SOL, su patrón poligráfico se modificó, encontrando primero un patrón regular de espigas, después las espigas aparecieron junto con las ondas lentas, y más tarde, apareció un patrón regular de actividad de ondas lentas que posteriormente disminuyó. Durante el estado de SOL, la actividad muscular obtenida por el EMG tuvo una ligera reducción.

Después de un tiempo variable, las ondas lentas de las áreas frontal y parietal fueron reemplazadas súbitamente por ondas rápidas de amplitud mayor que las observadas en el estado de alerta ( $40\mu\text{V}$  aprox). Este patrón caracterizó al estado de SP. No obstante la amplitud observada en el SP, fue menor que la encontrada en el SOL. Otras características poligráficas encontradas en este estado, fueron el tono muscular abatido, la presencia de movimientos oculares, así como también sacudidas de los miembros y movimientos de las vibrisas y de la cabeza.

Debido a la singular presencia de movimientos oculares rápidos en este estado, desde hace algunos años se le denominó SMOR.

Asimismo, Depoortere (1980) logró diferenciar cinco fases separadas durante el ciclo de sueño y vigilia de la rata: VIG, somnolencia, SOL, fase transicional y el SMOR. Sin embargo, en la mayoría de los estudios de sueño realizados en la rata sólo se consideran tres de ellos: VIG, SOL y SMOR.



La descripción de las características poligráficas del sueño se ha hecho con base en los experimentos realizados en gatos, a partir del análisis de la corteza cerebral, el núcleo geniculado lateral (NGL), el hipocampo y el EOG, y es de la siguiente manera:

**VIGILIA :** Se caracteriza por la presencia de actividad cortical de bajo voltaje y elevada frecuencia, episodios de actividad theta en el hipocampo, movimientos oculares, espigas de baja amplitud en el NGL y tono muscular.

**SUEÑO DE ONDAS LENTAS :** Exhibe ondas lentas de elevada amplitud y baja frecuencia en la corteza e hipocampo, y presencia de espigas de sueño en la corteza. Por otro lado, los movimientos oculares y de los miembros y las espigas en el NGL están ausentes.

**SUEÑO PARADOJICO O SUEÑO DE MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS :** Se observa actividad cortical de bajo voltaje y frecuencia elevada, actividad rítmica hipocámpal (theta), espigas de elevada amplitud en el NGL y atonía muscular.

De acuerdo a estudios previos en animales se ha determinado la existencia de dos conductas básicas de sueño: a) el sueño quieto, restaurador, con sincronización del EEG, sin movimientos oculares rápidos (sueño NMOR) o SOL, y b) sueño activo, de las ensoñaciones, de desincronización del EEG, paradójico o SMOR.

En estudios recientes (Steriade, 1991; Llinás y Paré, 1991) se mencionó que existe una cierta similitud entre el estado funcional de la vigilia y del sueño paradójico, sin embargo es diferente el manejo de la información sensorial y la inhibición cortical en cada uno de ellos. Al respecto, la similitud funcional radica en

los patrones idénticos de actividad electroencefalográfica desincronizada de frecuencia rápida y bajo voltaje, y también por los signos de excitabilidad aumentada en las neuronas talámicas y corticales similares en ambos estados, que reflejan un estado de "activación cerebral". Este fenómeno de activación, indica la disposición tónica de las redes cerebrales para asegurar la transmisión sináptica y las respuestas celulares rápidas. Es decir, en el caso de la vigilia, la activación es la disposición de respuesta para cualquier mensaje del mundo externo, y en el caso del sueño paradójico, se refiere a la situación de si los controles generados internamente inducen o no una respuesta motora. De modo que en ambos estados el cerebro se encuentra activado, no obstante la supresión de la respuesta motora y la alteración del contenido mental durante el sueño paradójico (Steriade, 1984).

Por otro lado, el término "quieto" del sueño del EEG sincronizado, se justifica por el bloqueo de la transmisión sináptica de la información sensorial, a través de las estaciones de relevo centrales (talámicas), así como por la ausencia de movimientos oculares y de los miembros.

Desde otro punto de vista, el término "sincronización" se refiere al estado en el cual dos o más osciladores exhiben la misma frecuencia, debido a algunas formas de interacción, y desde el punto de vista electroencefalográfico, describe un estado caracterizado por ondas rítmicas de amplitud elevada que pueden ser ondas de espiga y ondas delta. Sin embargo, también puede observarse en otros estados conductuales (actividad theta en VIG y SMOR). Por su parte, la "desincronización" consiste en la interrupción de los ritmos sincronizados de amplitud elevada a nivel del circuito tálamo-cortical, y su reemplazo por ondas rápidas de baja amplitud que ocurren en el estado de VIG, en la fase de despertar y en el SMOR.

## RESEÑA HISTORICA DEL CONOCIMIENTO DE LAS BASES ANATOMICAS DE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA

Desde hace dos milenios, al sueño se le consideraba como un fenómeno pasivo, causado por la fatiga o el cese de los suministros sensoriales continuos que ocurren en el cerebro durante la vigilia. Mucho tiempo después, en la década de los años 1930's, Bremer realizó experimentos en los cuales seccionó el encéfalo de gatos a diferentes niveles, y posteriormente registró el EEG, mostrando que cuando el cerebro es desconectado a nivel del cordón espinal el encéfalo exhibe signos de vigilia (encéfalo aislado). En tanto que, cuando la sección se realizó a un nivel superior del tallo cerebral, se produce una actividad electroencefalográfica y ocular similar a la observada en el estado de narcosis profunda por barbitúricos (cerebro aislado). El aporte de Bremer consistió en mostrar que el tono cerebral se mantiene por el flujo constante de suministros sensoriales entre la médula oblongada y el mesencéfalo, y que el sueño resulta del retiro de esta entrada sensorial.

Sin embargo, esta idea requería de la participación de vías sensoriales específicas para mantener la vigilia.

Algunos años después, Moruzzi y Magoun (1949) postularon que esta vía podría ser una estructura inespecífica, la formación reticular del tallo cerebral, que funciona como una colateral de ciertas modalidades sensoriales heteróneas (Formación Reticular Activadora Ascendente). Por otra parte, Facón y cols. (1958) al realizar, lesiones en el tegmento pontomesencefálico, lesiones bilaterales de los núcleos intralaminares del tálamo (que son la continuación rostral de la parte central reticular del tallo cerebral), o de ambas, encontraron un grave deterioro de la vigilancia.

De esta manera, los estudios de lesiones y de estimulación eléctrica a nivel de la protuberancia (secciones pretrigeminales rostro y medio pontinas) o de la unión pontobulbar, han logrado establecer datos cada vez más definitivos acerca del control neural de los estados de vigilia y del sueño. Los experimentos en los que se seccionan ciertas regiones del encéfalo, han ayudado a orientar las investigaciones sobre los mecanismos del sueño hacia áreas concretas del sistema nervioso (De Andres y Corpas, 1990). Mientras que los estudios neurofisiológicos que emplean los registros de actividad neuronal unitaria, han permitido discriminar los tipos neuronales que generan la vigilia de aquellos que generan el sueño. También, han permitido entender los mecanismos celulares de su generación. Recientemente, numerosos estudios han intentado demostrar la participación de ciertos neurotransmisores químicos específicos, junto con sus neuronas químicamente específicas en la generación y el mantenimiento del sueño y la vigilia.

No obstante, el estudio interdisciplinario involucrando a la neurofisiología, neuroanatomía y la neuroquímica ha contribuido al conocimiento de los mecanismos básicos de los estados de sueño y vigilia.

#### CONTROL DE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA

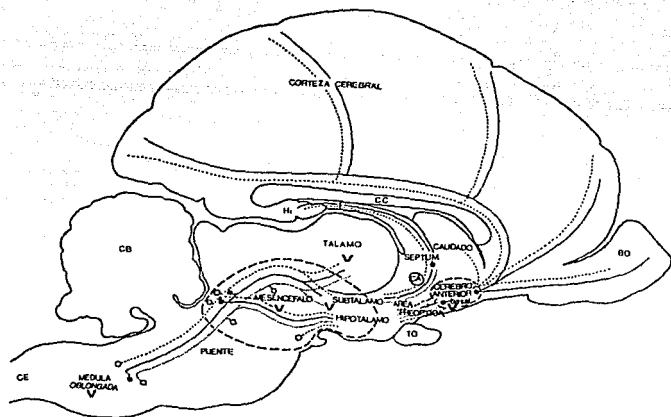
A pesar de las intensas investigaciones en relación a las bases biológicas del sueño, hasta el momento el conocimiento del origen y los mecanismos de los estados del sueño a nivel neuronal ha sido puramente fenomenológico, es decir, que se conoce más acerca de los mecanismos celulares para varios de los signos que distinguen a los estados del sueño, que de los procesos de larga duración o de las funciones del sueño. Es por eso que sólo se ha demostrado la participación de

diversas estructuras cerebrales que resultan críticas para las manifestaciones fenomenológicas de los estados del sueño.

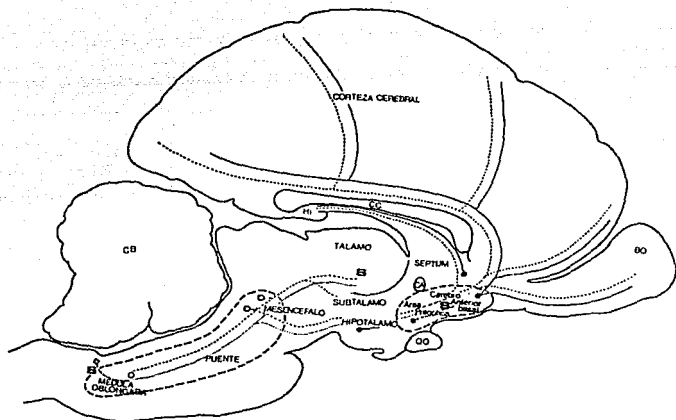
En la actualidad, se han postulado algunos de los mecanismos por los que son generados y mantenidos los estados de vigilia, sin embargo aún no existe un acuerdo al respecto. No obstante, es claro que los experimentos de lesiones, los de estimulación eléctrica en el cerebro, los farmacológicos y los bioquímicos han intentado cimentar las bases de los diversos estados de vigilia. Prueba de ello, es lo expresado por Jones (1989, 1991) y Vertes (1990), acerca de que se tienen actualmente evidencias de algunas de las posibles bases anatómicas y bioquímicas de la vigilia, el sueño de ondas lentas y el sueño de movimiento oculares rápidos. Estas evidencias son producto de los numerosos estudios experimentales realizados en el presente siglo. En el presente estudio no abordaremos en detalle los anteriores aspectos, sin embargo en las figuras 5 a la 8 se describen brevemente algunos aspectos neuroanatómicos y bioquímicos de los estados de vigilia.

#### REGULACION DEL CICLO DE SUEÑO Y VIGILIA

De acuerdo a ciertos estudios de sueño realizados en seres humanos y en la rata, se conoce que el sueño está regulado tanto por la interacción de factores homeostáticos que controlan el sueño y la vigilia, así como por factores circadianos que son independientes del sueño y la vigilia. Ambos son importantes para la alternancia del sueño (Borbély y cols., 1983, Daan y cols., 1984). En varios estudios, se ha encontrado que la privación de sueño ejerce sus efectos principalmente sobre el factor homeostático, ya que la pérdida de sueño induce un efecto compensatorio; en tanto que un exceso disminuye su propensión. Sin embargo, esta pérdida de sueño debido a la extensión de la vigilia, sólo se recupera



**Fig. 5** Mecanismos generadores de la vigilia. Descripción esquemática de la sección sagital (S~2.5 mm de la línea media) del cerebro de gato, representando los sistemas neuronales involucrados en la generación y el mantenimiento de la vigilia. Las áreas delimitadas con líneas interrumpidas representan en el tallo cerebral (formación reticular pontina oral y reticular mesencefálica) y el diencefalo caudal (hipotálamo posterior, subtálamo y tálamo ventral) y de la base del cerebro anterior, el sitio donde las lesiones están asociadas con una disminución crónica o la pérdida de la activación cortical y de la actividad conductual y de la capacidad de respuesta, indicativos de vigilia. Mientras las lesiones del tegmento mesencefálico central afectan principalmente la activación cortical, las lesiones del tegmento mesencefálico ventral alteran el alerta conductual. Abreviaturas: BO, bulbo olfatorio; CA, comisura anterior; CB, cerebelo; CC, cuerpo calloso; CE, cordón espinal; Hi, hipocampo; TO, tracto óptico; V, vigilia. (Tomado de Jones, 1989).



**Fig. 6** Mecanismos generadores del sueño de ondas lentas. Descripción esquemática de la sección sagital, paramediana (S-1.0 mm de la línea media) del cerebro de gato, representando los sistemas neuronales involucrados en la generación y el mantenimiento del sueño de ondas lentas. Las áreas delimitadas con líneas interrumpidas representan las regiones en el tallo cerebral (núcleos del rafe) y en el cerebro anterior (hipotálamo anterior, región preóptica, y la base del cerebro anterior) donde las lesiones están asociadas con una disminución o una pérdida crónica del sueño de ondas lentas. Los puntos marcados con S indican las regiones donde la estimulación eléctrica de baja frecuencia produce sincronía cortical y sueño conductual, y además, donde ciertas neuronas manifiestan un rango mayor de actividad espontánea durante el sueño de ondas lentas que durante la vigilia (incluyendo el núcleo del tracto solitario, los núcleos talámicos inespecíficos y la región preóptica-hipotalámica anterior y la base del cerebro anterior). Abreviaturas: BO, bulbo olfatorio; CA, comisura anterior; CB, cerebelo; CC, cuerpo caloso; Hi, hipocampo; QO, quiasma óptico; S, sueño de ondas lentas. (Tomado de Jones, 1989).

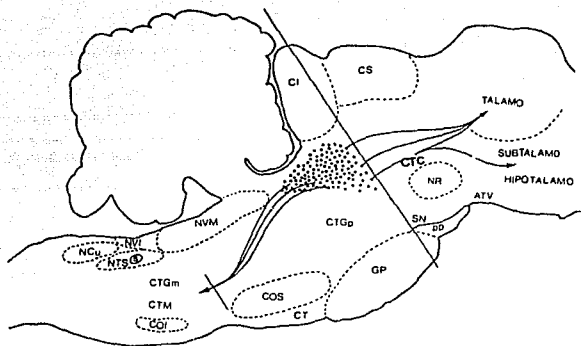
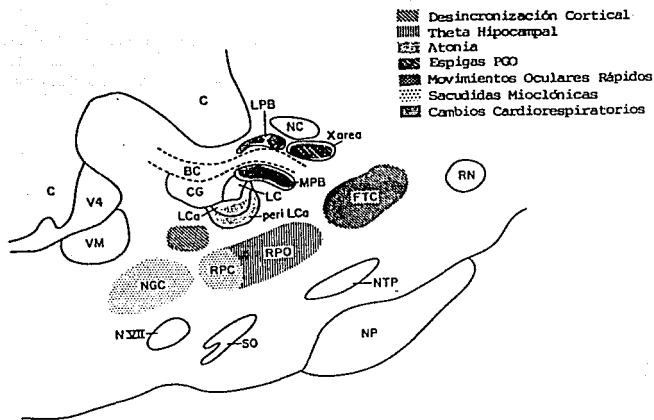


Fig. 7 Representación de una sección parasagital a través del tallo cerebral del gato. La línea que atraviesa el mesencéfalo caudal representa la sección rostral por la que no son evidentes los signos de sueño MOR (como espigas pontinas asociadas con atonía de los músculos del cuello). Detrás del sitio de la sección está localizado el grupo principal de neuronas colinérgicas del tegmento pontomesencefálico. Las células colinérgicas (círculos negros) del complejo tegmental laterodorsal-núcleo tegmental pedunculopontino (TLD-TPP) están concentradas en los núcleos TLD y TPP, pero también se extienden caudalmente dentro de los núcleos locus coeruleus-parabraquial (LC-PB) donde están concentradas las células noradrenérgicas (círculos vacíos). Las lesiones neurotóxicas que destruyen a la mayoría de las neuronas colinérgicas con daño en la minoría de las neuronas noradrenérgicas dentro de esta área, resultan en la pérdida inmediata del sueño paradójico, con ausencia de espigas PGO en el cuerpo geniculado lateral y ausencia de la atonía muscular en el cuello. Estas neuronas envían proyecciones ascendentes hacia el tálamo (principalmente al geniculado lateral) y proyecciones descendentes hacia el tallo cerebral (formación reticular pontina y medular). La interrupción de la vía descendente (tegmento reticular) del puente a la médula oblongada) en la unión pontomedular, indicada por una pequeña línea diagonal, y las lesiones neurotóxicas de las neuronas de la formación reticular medular medial (CTGm y CTM) interrumpen la atonía de los músculos del cuello característicos de este estado de sueño. Abreviaturas: ATV, área tegmental ventral; CI, colículo inferior; COL, complejo olivar inferior; COS, complejo olivar superior; CS, colículo superior; CT, cuerno del núcleo subtalámico; CTC, campo tegmental central; CTGm y CTGp, campo tegmental gigantocelular de la médula oblongada y del puente; CTM, campo tegmental magnocelular; GP, sustancia gris pontina; NCu, núcleo cuneatus; NR, núcleo rojo; NTS y s, núcleo del tracto solitario; NVI y NVM, núcleo vestibular inferior y medial; pp, pes pedunculi; SN, sustancia nigra. (Tomado de Jones, 1991).





**Fig. 8** Sección esquemática parasagital a través del tallo cerebral del gato (aprox. 3 mm lateral a la línea media) mostrando la localización de los grupos celulares involucrados en el control de los principales eventos durante el sueño MOR. Abreviaturas: BC, brachium conjuntivum; C, cerebelo; CG, sustancia gris central; FTC, campo tegmental central; LC, locus coeruleus; LCa, locus coeruleus pars alfa; LPB, núcleo parabraquial lateral; MPB, núcleo parabraquial medial; NC, núcleo cuneiforme; NGC, núcleo gigantocelularis; NP, núcleo del puente; NTP, núcleo tegmental pontino; N VII, núcleo facial; peri-LCa, peri-locus coeruleus pars alfa; RN, núcleo rojo; RPC, núcleo reticularis pontis caudalis; RPO, núcleo reticularis pontis oralis; SO, oliva superior; VM, núcleo vestibular medial; V4, cuarto ventrículo; X area, área X de Sakai. (Tomado de Vertes, 1990).

parcialmente durante el periodo de recuperación (Borbély y Neuhaus, 1979, Borbély y cols., 1983, Mistlberger y cols., 1983, Trachsel y cols., 1986).

El contexto en el que se entiende la "homeostasis" del sueño ha sido el mismo postulado por Cannon (1939), como "la serie de procesos fisiológicos coordinados que mantienen muchos de los estados constantes en el organismo".

## LA PRIVACION DE SUEÑO COMO INSTRUMENTO PARA EL ESTUDIO DEL SUEÑO

Una de las maneras de estudiar las funciones del sueño en mamíferos ha sido privándolos del mismo, procedimiento que se ha empleado en gran medida desde principios de siglo en muchos experimentos en animales y en los seres humanos. Se ha encontrado que, en general, el hombre parece afrontar bien la falta de sueño a diferencia de otros mamíferos.

En los experimentos de privación en seres humanos, se les puede preguntar a los voluntarios, que permanezcan sin dormir por algunos días y que pueden retirarse del experimento cuando ellos lo deseen. Los voluntarios son examinados antes, durante y después del experimento, garantizándoles que no les sucederá nada que les produzca algún daño en su integridad física. En cambio, en los animales, ninguno de estos factores se aplica realmente, ya que no podemos comunicarnos con ellos, los estudiamos en condiciones de laboratorio y no en su medio ambiente natural. Sin embargo, son sumamente benéficas algunas ventajas por el uso de animales para el estudio del sueño, ya que en ciertos experimentos les podemos invertir su ciclo de luz y oscuridad, así como el de actividad y reposo, manteniéndolos despiertos durante sus fases de reposo cuando deberían estar dormidos, utilizando así una variada metodología para estudiar las funciones del sueño.

Otra de las ventajas del empleo de los animales en los estudios de privación de sueño, ha sido la privación de los animales por periodos largos, lo cual es difícil de realizar en los seres humanos.

Uno de los primeros estudios en relación a la privación de sueño lo realizó Kleitman (en los años 1920's), quien mantuvo despiertos durante 2 a 7 días a un grupo de cachorros, jugando con ellos o forzándolos a caminar. A los 3 o 4 días de la privación, los animales se alimentaban y bebían agua de manera normal, posteriormente perdieron el interés en el ambiente circundante, sin embargo al ser comparados con los controles que no fueron privados de sueño, no presentaron una gran caída de su temperatura corporal, tampoco cambios importantes en sus funciones vitales. El único hallazgo que coincidió con reportes previos, fue la disminución de los glóbulos rojos de la sangre.

En 1946, Licklider y Bunch (citado por Kleitman, 1963) intentando determinar la mínima cantidad de sueño para la supervivencia en ratas de laboratorio, las privaron de sueño por la técnica de locomoción forzada, dividiéndolas inicialmente en cuatro grupos: privadas de sueño, con sueño normal, con ocho horas de sueño y con cuatro horas de sueño. Las mantuvieron durante varias semanas, en el caso del grupo de privación total de sueño, hasta que murieron (3 a 14 días). Sorpresivamente, el grupo que sobrevivió por más tiempo fue al que se le permitió dormir 4 horas, donde se observó que estos sujetos eran sumamente irritables.

En otro experimento, estos autores estudiaron con mayor detalle el efecto de 4 horas de sueño al día, empleando animales jóvenes con objeto de analizar su crecimiento y su habilidad para aprender, empleando un grupo control para aclarar el efecto del ejercicio. Analizaron los datos en varios parámetros durante 10 a 18

semanas, encontrando que a los pocos días, los rangos de crecimiento de los animales que durmieron 4 horas comenzaron a disminuir por debajo de los controles, y después de 50 días, su peso corporal aumentó poco, a diferencia de los controles que siguieron ganando peso. No obstante, los animales privados de sueño mostraron buen estado de salud, a pesar de la irritabilidad y no exhibieron grandes diferencias en las pruebas de aprendizaje respecto a los controles.

Recientemente, se han realizado numerosas investigaciones en relación con el sueño, con el propósito de aclarar su significado funcional. Producto de éstas, se han postulado diversas interpretaciones acerca de la función del sueño; una de ellas sugiere que el sueño es un fenómeno de "recuperación biológica", es decir, que en él suceden procesos restaurativos, considerándolo como un periodo de recuperación necesario de un estado que se agota durante la vigilia y en el que suceden cambios internos.

De manera que, como mencionamos al inicio de esta sección, una de las bases experimentales de esta interpretación han sido los experimentos de privación de sueño en los mamíferos. La explicación por el uso de este método es, que así como la extirpación de un órgano ayuda a determinar su función asegurando los signos de deficiencia, la realización de la privación de cierta actividad del organismo corresponde a su contraparte funcional. Así, la vigilia prolongada se ha empleado para determinar los efectos de la falta de sueño y para investigar los mecanismos de regulación del mismo.

Nuevamente, Kleitman (1929) hizo mención a este respecto, mencionando que "la vigilia prolongada, tanto en el hombre como en los animales, sólo puede acompañarse de la actividad muscular continua".

Para la realización de los experimentos de privación de sueño en los animales, la "rueda rotatoria" ha sido la base para las técnicas actuales. Sin embargo, desde hace algunos años, la controversia ha sido si los cambios posteriores a la privación de sueño son debidos a la pérdida de sueño *per se* o a otros efectos estimulantes, tales como el ambiente de tensión o la fatiga física dependiendo de la técnica empleada. A pesar de estas discrepancias, la privación de sueño continúa siendo una de las estrategias experimentales más importantes para el estudio del fenómeno del sueño.

Con el objeto de aclarar en parte esta controversia, se han instrumentado técnicas cada vez más sofisticadas para alterar de manera específica cada uno de los estados del sueño en las diversas especies.

Diversos grupos de investigación han analizado los efectos de la privación de sueño en ratas empleando metodologías semejantes a las que se emplearon en el presente estudio. Por esta razón, es importante mencionar los hallazgos de algunos de sus estudios (Rechtschaffen y cols., 1983, 1989, Borbély y Neuhaus, 1979, Borbély y cols., 1980, 1983).

Rechtschaffen y cols. (a principios de los años 80's) centraron sus estudios en analizar los efectos de la privación crónica de sueño, selectiva o total, a fin de determinar sus efectos fisiológicos. Donde además de los controles sin privación, emplearon controles de estimulación. Su técnica consiste en alojar simultáneamente una rata control y una experimental en cada uno de los dos lados de un disco horizontal, dividido y suspendido sobre un pequeño compartimiento con agua. De acuerdo a esta situación, cuando la rata experimental empieza a dormir o a entrar en un estado de sueño "restringido o prohibido", el disco gira automáticamente,

despertando al animal experimental y forzando a ambas ratas, control y experimental, a caminar en el sentido opuesto al de la rotación del disco, para evitar caer en el agua.

De acuerdo a este procedimiento, ambas ratas reciben la misma estimulación física, sin embargo la estimulación está programada para despertar a la rata experimental. Cuando el disco gira, si la rata control dormía, ésta despertará. Asimismo, puede dormir cuando la rata experimental está despierta. Sus estudios han sido realizados principalmente en ratas adultas, y la duración mínima de la privación selectiva o total de sueño ha sido superior a los 10 días. Sus principales hallazgos se han enmarcado en un conjunto de signos de aparición muy constante, entre los que destacan, la muerte, la apariencia débil, las lesiones en la piel, el consumo elevado de alimento, la pérdida de peso, el gasto energético elevado, la disminución de la temperatura corporal (en los últimos días de la privación) y, el aumento y la disminución de noradrenalina y tiroxina plasmática, respectivamente. Sus resultados han establecido una relación muy estrecha entre el sueño y la termoregulación de los sujetos.

Por otra parte, en los estudios de privación total de sueño de Borbély y cols. (1979, 1983, 1984, 1986, 1990) emplearon la técnica de la locomoción forzada. Analizaron diversos parámetros del ECoG del ritmo circadiano de sueño y vigilia, en la rata y en otras especies. Esta técnica consiste en introducir a los animales implantados con electrodos en diversas áreas de la corteza cerebral, dentro de un cilindro (contruido de acrílico y malla de alambre), que a su vez es impulsado a girar lentamente por un motor, movimiento que evita que el sujeto en cuestión duerma. Han empleado diversos periodos de privación de sueño (3, 6, 12, 24 y 48 h) al igual que periodos de recuperación, para analizar el ECoG con la técnica del análisis

espectral (que se basa en el uso de la transformada rápida de Fourier), sus efectos sobre los parámetros de amplitud y frecuencia de los componentes del ECoG de los estados de vigilancia distribuidos circádicamente (Borbély y Neuhaus, 1979). Observaron que en condiciones basales, la amplitud del ECoG del sueño NMOR de la rata, exhibe una tendencia descendente durante el periodo de luz (fase de reposo), en tanto que la fracción de actividad de SOL del sueño NMOR y el SMOR, se concentraron ambas en la primera parte del periodo de luz. Sus resultados concuerdan con aquellos encontrados previamente por Rosenberg y cols. (1976) en relación al SOL.

Después de 24 h de privación de sueño, el sueño NMOR disminuyó y el SMOR aumentó (en duración y frecuencia); asimismo, la cantidad de sueño NMOR aumentó en mayor proporción después de 24 h de privación que después de 12 h, mientras que la amplitud EEG del sueño NMOR aumentó de manera similar después de ambos periodos de privación (12 y 24 h). De esta manera se mostró que, en la rata, el SOL definido en estos estudios por el método "zero-crossing" o análisis de frecuencia y el análisis espectral, son indicadores sensibles de la pérdida de sueño (Borbély y Neuhaus, 1979, Borbély y cols., 1984).

Los resultados de la privación de sueño obtenidos en estudios realizados en humanos y en animales, sugirieron que el aumento de la actividad del EEG de ondas lentas (ej. actividad delta) podría representar un aumento en la intensidad del sueño NMOR (Borbély, 1982). También establecieron que la actividad delta del sueño NMOR aumenta en función de la vigilia previa después de los periodos de privación de 3, 6, 12, 24 y 48 horas (Tobler y Borbély, 1986, 1990).

Empleando el método del análisis espectral para evaluar los cambios del ECoG de los estados de vigilancia posteriores a un periodo de privación de sueño

(Borbély y cols., 1984), encontraron que ocurren cambios importantes en el SOL, en las primeras horas del periodo de recuperación. Debido a esto, sugirieron que esta actividad determina la energía total del EEG, la cual representa la intensidad del sueño.

Recientemente, Alföldi y cols. (1990) realizaron un estudio en el que privaron de sueño durante 2 horas por manipulación suave a un grupo de ratas de 24 días de edad, y durante 6 horas en las ratas de 30 días de edad, encontrando un aumento del sueño NMOR y el "rebote" compensatorio de SMOR en el período de recuperación. Esta última observación, les motivo a sugerir que a la edad de 24 días de las ratas, ya existe un tipo de regulación homeostática del sueño.

De este modo, los estudios de privación indican que la intensidad del sueño está regulada por un proceso homeostático que puede considerarse como indicador de la necesidad fisiológica del sueño (Borbély, 1981).

En la mayoría de los estudios de privación de sueño se han empleado animales adultos, y pocos han sido los estudios llevados a cabo en animales jóvenes (30 ó 60 días de edad). Los escasos trabajos de privación de sueño en animales jóvenes han empleado periodos de privación menores de 24 horas y en el análisis del periodo de recuperación sólo han considerado 24 a 48 horas.

Por otra parte, dado que se conoce que los procesos que suceden durante el desarrollo cerebral pre y posnatal determinan, en parte, la funcionalidad de los circuitos cerebrales, y que como se mencionó previamente, los factores exógenos nocivos, como la desnutrición hipoproteínica, podrían provocar ciertas



modificaciones en la expresión funcional de los estadios de vigilancia del ritmo circadiano del sueño y la vigilia.

## **HIPOTESIS Y OBJETIVOS**

Por consiguiente, si la privación total de sueño en ratas controles adultas produce efectos compensatorios en los estados de vigilancia durante el periodo de recuperación, entonces el patrón compensatorio posterior a la privación total de sueño de ratas jóvenes controles posiblemente será diferente al de los sujetos adultos.

Y puesto que la desnutrición hipoproteínica crónica interfiere en ciertos procesos de maduración del Sistema Nervioso Central, entre ellos quizás los que regulan los estados de vigilancia y aquellos involucrados en su ritmicidad circadiana, si privamos de sueño a ratas jóvenes desnutridas, entonces estas probablemente exhibirán respuestas diferentes en algunos parámetros electroencefalográficos de los estados de vigilancia de aquellos encontrados en las ratas bien nutridas.

De esta manera, se propusieron los siguientes objetivos:

**I.** Obtener los registros poligráficos del electrocorticograma (ECoG) de la corteza occipital y del electromiograma (EMG) de los músculos dorsales del cuello, para determinar los estados de vigilancia del ciclo de sueño y vigilia (vigilia, sueño de ondas lentas y sueño de movimientos oculares rápidos) de ratas macho de 30 y 60 días de edad, controles y desnutridas hipoproteínicamente. Durante un día basal de

registro (día 1 experimental) y tres días de recuperación de sueño (días 3, 4 y 5 experimentales) posteriores a un periodo de 24 horas de privación total de sueño por el método de la locomoción forzada (día 2).

**II.** Analizar el patrón circadiano de los estados de vigilancia de las ratas controles y desnutridas de ambas edades, durante el día basal y los días de recuperación.

**III.** Analizar la respuesta compensatoria en los estados de vigilancia de las ratas controles y desnutridas, después de un periodo de 24 horas de privación de sueño , y comparar esta respuesta, con los datos obtenidos en el día basal (1).

**IV.** Determinar los cambios debidos a la edad en los estados de vigilancia de las ratas controles y desnutridas de 30 y 60 días.

## **METODOS**

Primeramente, empleamos 20 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley de 90 a 120 días de edad y entre 250 a 300 g de peso corporal, que fueron alojadas en el interior de un cuarto del bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas, cuyas condiciones de luz y oscuridad (LO) fueron de 12:12 horas, iniciando el periodo de luz a las 8 horas, y la temperatura ambiental fue de 22 a 24 ° centígrados en el interior del cuarto.

La desnutrición se realizó de acuerdo al método empleado previamente por Morgane y cols. (1978), mediante el uso de dietas con bajo contenido en proteína adquiridas de la compañía Teklad-Harlan de Madison, Wisconsin, EUA.

### **DIETAS Y CONDICIONES DE CRIANZA DE LAS RATAS**

El contenido de las dietas empleadas en nuestro estudio se señala en la figura 9, donde se pueden apreciar algunas de las características más sobresalientes. Entre estas, la caseína se utilizó como fuente de proteína para ambas dietas, el contenido de caseína fue diferente en ambas dietas (25% y 6% de caseína), la dieta con menor porcentaje de caseína tuvo una mayor cantidad de carbohidratos que compensan la posible deficiencia en calorías, ambas dietas contienen mayor cantidad de grasa en relación al de una dieta comercial, y además, debido al bajo contenido en aminoácidos sulfurados en la caseína, la dieta fue suplementada con L-metionina.

El total de ratas hembras fue dividido en dos lotes, cada uno con igual número de sujetos. Las hembras de un lote consumieron la dieta con 25% de proteína (CONTROL), y las hembras del otro, consumieron la dieta con 6% de proteína (DESNUTRIDAS); ambas durante 5 semanas previas al periodo de apareamiento,

FIGURA 9

COMPOSICION NUTRICIONAL DE LAS DIETAS \*

Componentes	Dietas	
	25% caseína	6% caseína
Proteína	21.8	5.3
Grasa	15.4	15.0
Carbohidratos	50.9	68.9
Mezcla de sales	4.7	4.0 &
Mezcla de vitaminas	1.0	1.0
Agua	2.2	1.2
Elemento no nutritivo	4.2	4.2
kcal/g	4.3	4.3

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

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

durante la gestación y a lo largo de la lactancia. A su vez, los machos consumieron las dietas correspondientes al lote al cual fueron asignados una semana antes del apareamiento y durante el mismo (10 días). El destete de las crías se realizó a los 21 días de edad, y posteriormente, las crías continuaron consumiendo la dieta correspondiente a su lote hasta el término del experimento. Durante todo este tiempo los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

#### IMPLANTACION DE ELECTRODOS EN LA CORTEZA OCCIPITAL DE LAS RATAS

Previamente, elaboramos dos tipos de electrodos con alambre ortodóncico de acero inoxidable de 0.25 mm (Rocky Mountain Tru-Chrome) y 0.10 mm (Belden Co.) de grosor, aislándolos con varias capas de barniz (EpoxyLite) sobre su superficie.

Ambos tipos de electrodos fueron incrustados en las perforaciones de un "conector" de baquelita. Este último, al realizar la implantación en cada sujeto fue fijado con acrílico dental a la superficie ósea del cráneo.

Una semana antes del día de registro basal (23 a 25 días para las ratas macho de 30 días, y 53 a 55 días para las de 60 días de edad), previa anestesia con pentobarbital sódico (Anestosal, Smith Kline; Norden de México)(30-40 mg/kg de peso corporal), realizamos la implantación de los electrodos bipolares de acero inoxidable en la corteza occipital y en los músculos del cuello en cada una de las ratas auxiliadas con un aparato estereotáxico (fig. 10). Posteriormente, los animales permanecieron en recuperación durante 5 a 7 días, al término de los cuales realizamos los registros ECoG y EMG a la edad de 30 y 60 días de las ratas control y desnutridas.

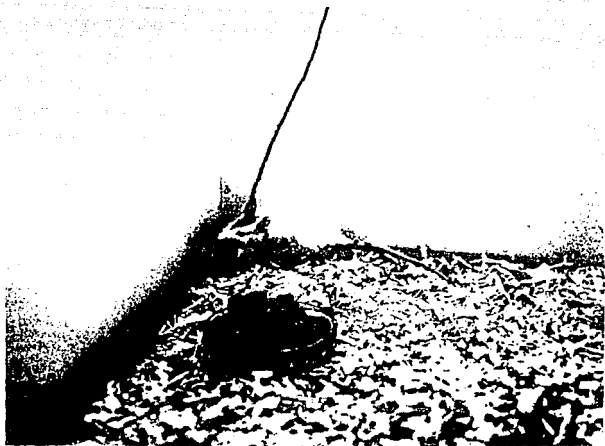


**Fig. 10** Dispositivo estereotáxico empleado para la implantación de electrodos corticales y de los músculos de cuello en una rata experimental.

Los sujetos empleados fueron ratas macho, tanto para el grupo control (dieta 25% de proteína) como para el experimental (dieta de 6% de proteína).

Veinticuatro horas antes del registro basal, se colocó a los animales implantados en el interior de 4 cámaras de registro sono atenuadas de "Faraday" (LO 12:12 h y 22-24° C de temperatura ambiental), a fin de lograr la adaptación adecuada de los sujetos implantados a las condiciones prevaecientes en el interior de las cámaras (fig. 11). Lo anterior, se realizó uniendo el conector implantado de cada una de las ratas al conector correspondiente situado en el interior de cada cámara de registro sono atenuada. En el interior de las cámaras, los sujetos tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

Se realizó simultáneamente el registro ECoG y EMG basal de cuatro sujetos por cada sesión de registro (24 h) en un polígrafo Grass modelo 7D durante el ciclo de sueño y vigilia de los animales (fig. 12). El inicio del registro basal del periodo de privación de sueño, así como el de recuperación, se realizaron al comienzo del periodo de luz (L), es decir, en la fase de reposo de las ratas, con el fin de analizar posteriormente algunas de las características electrográficas de sus estados de vigilancia durante el día experimental basal. Al término del registro basal (día 1), los animales fueron retirados del interior de las cámaras de registro, y a continuación, se realizó la privación total de sueño durante un periodo de 24 horas (día 2), introduciéndolos al interior de un "cilindro", formado por una serie de discos de acrílico rodeados por una malla de alambre, que al ser impulsado por un motor el cilindro rota lentamente. El diámetro del cilindro fue de 32 cm, proporcionando una rotación cada 2'40" (la velocidad del motor fue de 2.5 mm/seg)(fig. 13). Cabe aclarar que no realizamos el registro electrográfico del periodo de privación de sueño debido a dificultades técnicas que no pudieron ser superadas. Al finalizar el



**Fig. 11** Rata implantada alojada en el interior de una de las cámaras de registro sono-atenuadas de "Faraday", bajo las condiciones experimentales de registro.



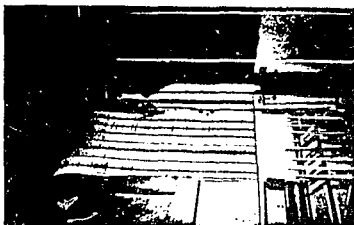
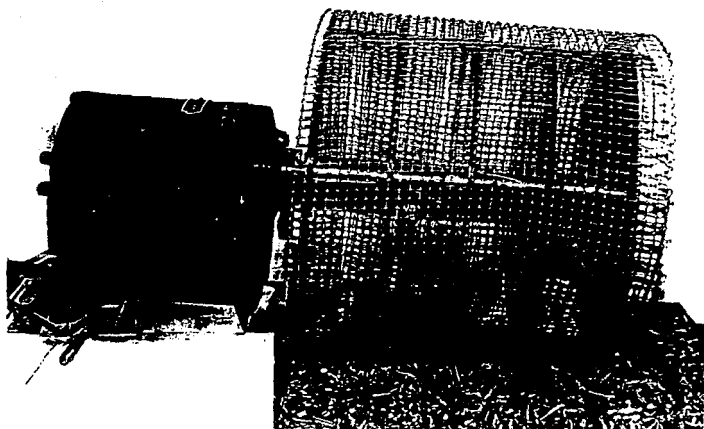


Fig. 12 Registro del ECoG y el EMG de los estados de vigilancia en un polígrafo Grass mod. 7D (fotografía del lado izquierdo) realizados en cuatro ratas de manera simultánea (fotografía del lado derecho).



**Fig. 13** Dispositivo para la privación total de sueño mediante un cilindro rotatorio. Obsérvese que el aparato que genera la rotación es un quimógrafo colocado con su eje en posición horizontal, sosteniéndolo asimismo a una serie de discos de acrílico intercalados, en cuyos espacios se coloca individualmente a cuatro ratas simultáneamente. Nótese además, que el piso del cilindro lo forma una malla de alambre ajustada a los bordes de los discos de acrílico. En cada compartimiento hay un comedero y un bebedero.

periodo de privación, los sujetos fueron introducidos nuevamente al interior de cada cámara sono atenuada e inmediatamente registramos sus estados de vigilancia durante un periodo de recuperación de sueño de 72 horas (días 3, 4 y 5 experimentales).

De acuerdo al patrón electrográfico característico de cada uno de los estados de vigilancia, cuantificamos visualmente todos los registros, con base en el número de épocas (12 seg/época) de cada estado de vigilancia (vigilia, sueño de ondas lentas y sueño de movimientos oculares rápidos)(fig. 14). Consideramos que un sujeto paso una época en un estado de vigilancia determinado, si permaneció en este estado al menos en un 80% de la época.

Los hallazgos resultantes del análisis visual, fueron analizados con un programa de sueño para computadora PC, especialmente diseñado para transformar el número de épocas de cada estado de vigilancia, al tiempo real equivalente en minutos. Un análisis de sueño similar fue realizado previamente por Forbes y cols. (1977) y Cintra y cols. (1988).

El programa empleado emitió los resultados de los intervalos de 4, 12 y 24 horas en términos de porcentaje (%) y de tiempo (minutos) en que los sujetos estuvieron en cada estado de vigilancia.

Para el análisis de los datos, se consideró un número de 6 animales registrados por cada condición experimental, es decir en dos grupos de dieta (25% y 6% de proteína), en dos edades (30 y 60 días). Cada uno fue registrado en un día basal y durante 3 días de recuperación.

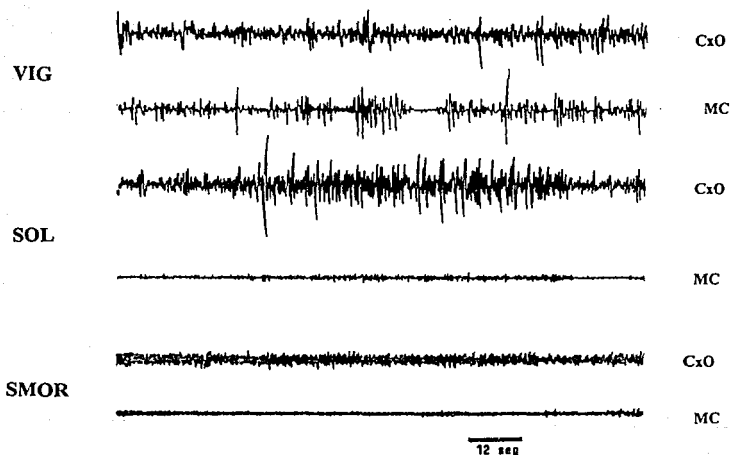


Fig. 14 Patrones del ECoG de la corteza occipital (CxO) y del EMG de los músculos dorsales del cuello (MC) de los estados de VIG (primero y segundo trazos de la parte superior a la inferior), SOL (tercero y cuarto trazos) y del SMOR (quinto y sexto trazos) de una rata del presente estudio. La velocidad a que corrió el papel poligráfico fue de 2.5 mm/seg.

El manejo estadístico de los datos se realizó de la siguiente manera:

- a) Peso corporal : para los puntos indicados en la curva de pesos corporales aplicamos la prueba de t Student, de dos colas.
- b) Los datos de los estados de vigilancia en las fases de reposo, actividad y de reposo y actividad de las ratas de ambas edades y condiciones de dieta, se analizaron empleando un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, y posteriormente, se realizó una prueba de Tukey, para determinar las diferencias significativas entre los grupos (proporciona valores significativos de  $* p < 0.05$ ).
- c) Para los datos analizados a intervalos de 4 horas, se aplicó la prueba de t Student, de dos colas.
- d) Para evaluar los datos del día de privación respecto a los de recuperación, también se aplicó la prueba de t Student, de dos colas.
- e) Finalmente, la variación de los estados de vigilancia entre las edades de 30 y 60 días de las ratas se evaluó aplicando la prueba de t Student, de dos colas (VIG, SOL y SMOR) y la prueba de Tukey (SOL/TTS, SMOR/TTS y TTS/TOT).

## RESULTADOS

### I. PESO CORPORAL

En la figura 15, se muestra la curva de pesos corporales de los dos grupos de ratas empleados en el presente estudio: controles (indicados con líneas continuas) y desnutridos (indicado con líneas discontinuas). Se aprecia que las ratas controles presentaron un peso significativamente mayor que las desnutridas a lo largo de los primeros 60 días de edad. Aún cuando en esta figura no logren apreciarse las diferencias significativas entre ambos grupos durante la primera semana de vida, estas fueron estadísticamente significativas a partir del día del nacimiento (día 0).

No obstante, la figura 16 muestra más claramente esta diferencia de peso corporal entre los animales controles y los desnutridos a lo largo de los días de la lactancia (primeros 21 días posnatales).

### II. ANALISIS DE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA

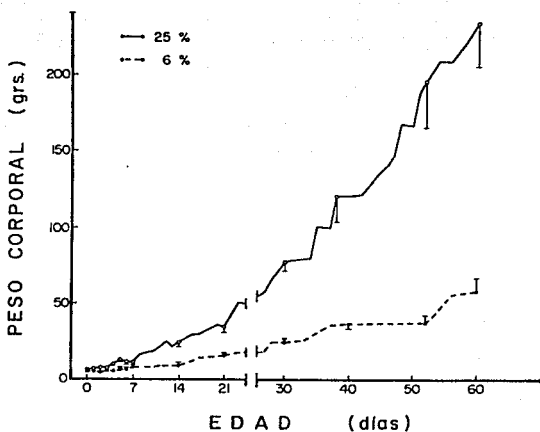
#### CAMBIOS DEBIDOS A LA DIETA

##### 2.1. Ratas de 30 días de edad

##### 2.1.1 Día 1 (Registro Basal)

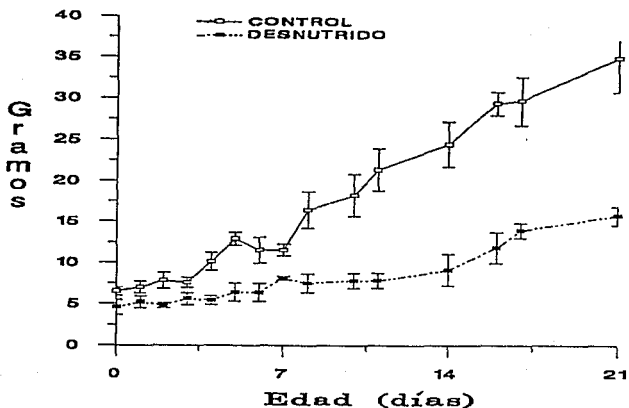
En la figura 17, se muestran las proporciones de los estados de vigilancia de las ratas controles y desnutridas de 30 días de edad, durante la fase de reposo, actividad y de reposo y actividad.

Respecto a los controles, los animales de 30 días de edad desnutridos tuvieron en la fase de reposo una menor proporción de VIG, mayor SOL y menor de SMOR. En la fase de actividad, ocurrió el mismo efecto para la VIG y el SOL, sin embargo las ratas desnutridas mostraron un porcentaje mayor de SMOR que las controles.



**Fig. 15** Relación del peso corporal respecto a la edad en ratas macho control (25% de caseína) y desnutridas (6% de caseína). Desde el día de nacimiento hasta los 60 días de edad todas las diferencias fueron significativas con  $p < 0.001$  con la prueba de t Student, de dos colas. El número de sujetos para cada punto fue variable, pero en general fue mayor de 15.

## Peso Corporal



**Fig. 16** Relación del peso corporal durante los días de la lactancia (21 días). Todas las comparaciones realizadas entre el grupo alimentado con la dieta de 25% contra el grupo alimentado con la dieta de 6% fueron significativas a  $p < 0.001$  con la prueba de t Student, de dos colas.  $n=15$ .



Al analizar ambas fases, se encontró que las ratas de 30 días desnutridas, tienen menos VIG, y más SOL y SMOR que las controles.

Desde el punto de vista circadiano, la tendencia general de cada uno de los estados de vigilancia a presentarse en mayor proporción en una de las fases del ciclo de reposo y actividad, estuvo claramente definida en los sujetos controles de 30 días de edad. Es decir, la VIG en los controles disminuyó en la fase de reposo y aumentó en la de actividad; para el SOL, ocurrió lo inverso, aumentó en la fase de reposo y disminuyó en la de actividad. Finalmente, el SMOR aumento en la fase de reposo y disminuyó durante la actividad.

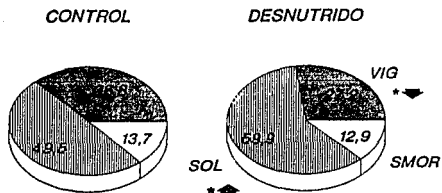
Sin embargo, en los sujetos desnutridos esta situación fue diferente de los controles, únicamente en el SMOR, ya que fue menor en la fase de reposo y mayor en la de actividad.

Además, los valores porcentuales de los diversos estados de vigilancia fueron diferentes entre los controles y los desnutridos.

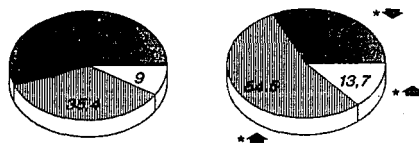
Al analizar los datos de los estados de vigilancia de las ratas de 60 días de edad (fig. 18), se encontró que en la fase de reposo los animales desnutridos pasaron más tiempo en VIG y SOL que los controles. Y como en los sujetos de 30 días, los animales de 60 días de edad desnutridos, presentaron significativamente menos SMOR que los controles.

Durante la fase de actividad, los desnutridos de 60 días de edad, al igual que a los 30 días, también tuvieron menos VIG y más SOL y SMOR que los controles. Cuando analizamos ambas fases, al igual que los animales de 30 días, las ratas desnutridas de 60 días tuvieron menor porcentaje de VIG y mayor de SOL. Sin embargo, contrario a los observado a los 30 días, los desnutridos de 60 días tuvieron

**30 DIAS**  
*Fase de Reposo*



*Fase de Actividad*



*Fases de Reposo y Actividad*

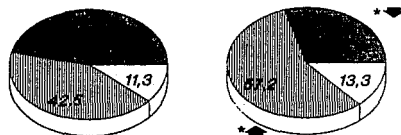
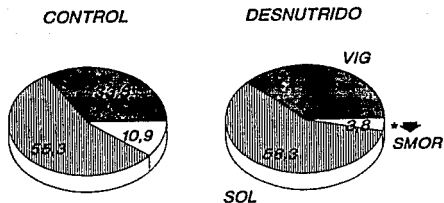


Fig. 17 Descripción del porcentaje de los estados de vigilancia (VIG, SOL y SMOR) de las ratas de 30 días de edad controles y desnutridas, mostrado en las fases de reposo, actividad y de reposo-actividad del día 1 (basal).

\*  $p < 0.05$  Prueba de Tukey . Aumentó (▲) o Disminuyó (▼).

**60 DIAS**  
**Fase de Reposo**



**Fase de Actividad**



**Fases de Reposo y Actividad**

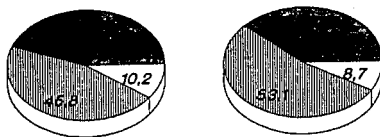


Fig. 18 Descripción del porcentaje de los estados de vigilancia de las ratas de 60 días de edad controles y desnutridas, mostrado en las fases de reposo, actividad y de reposo-actividad del día 1 experimental. \*  $p < 0.05$  Prueba de Tukey. Aumentó (↗) o Disminuyó (↘).

menor proporción de SMOR que los controles. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

La tendencia circadiana de los estados de vigilancia de las ratas controles de 60 días, fue similar a la observada en los sujetos de 30 días de edad. Por el contrario, en las ratas desnutridas de 60 días, también se presentó de manera normal para la VIG y el SOL; únicamente el SMOR mostró la tendencia circadiana alterada. Esto es, que los sujetos presentan menos SMOR en la fase de reposo y más en la de actividad, lo que en condiciones normales se presenta de manera inversa.

De modo que el SMOR en las ratas desnutridas de 60 días de edad mostró una variación nictemeral, es decir un "cambio de fase" circadiano.

### 2.1.2 Periodo posterior a la privación de sueño

En la fig. 19, se muestra el porcentaje de los estados de vigilancia en relación al total del registro durante la fase de reposo, actividad y de reposo y actividad de las ratas de 30 días controles (indicadas con líneas continuas y rombos en blanco) y desnutridas (indicadas con líneas discontinuas y rombos en negro), durante los días experimentales, basal (día 1) y de recuperación de sueño (días 3, 4 y 5) posteriores a la privación (día 2, no indicado en la figura).

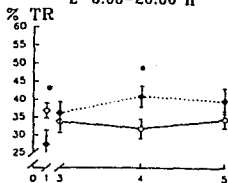
Con respecto a la VIG, en el día 1 las ratas controles tuvieron un porcentaje significativamente mayor que las desnutridas durante las fases de reposo, actividad y de reposo y actividad. Mientras que durante los días de recuperación, únicamente se encontró que durante la fase de reposo del día 4 las ratas desnutridas presentaron significativamente más VIG que las controles. Además, como se aprecia en la

30 DIAS

VIGILIA

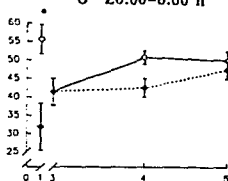
REPOSO

L 8:00-20:00 h



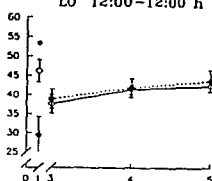
ACTIVIDAD

O 20:00-8:00 h

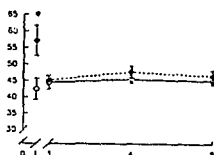
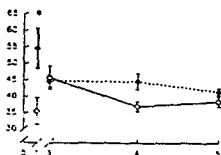
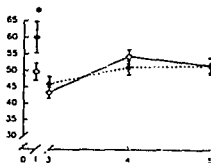


REPOSO-ACTIVIDAD

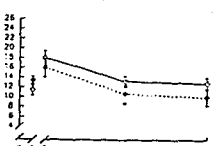
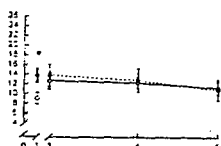
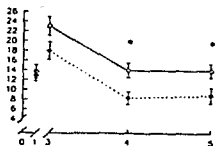
LO 12:00-12:00 h



SOL



SMOR



DIAS EXPERIMENTALES

Fig. 19 Comparación de los porcentajes de los estados de vigiliacia de las ratas de 30 días de edad controles (rombos blancos con líneas continuas) contra aquellos de las ratas desnutridas (rombos negros con líneas interrumpidas), durante las fases de reposo, actividad y de reposo-actividad de los días experimentales de registro (1, 3, 4 y 5). % TR, porcentaje del tiempo de registro. Significancias : \*  $p < 0.05$  Prueba de Tukey.

**TABLA 1**

**COMPARACION ENTRE EL DIA BASAL Y LOS DIAS DE RECUPERACION DE CADA ESTADO DE VIGILANCIA DE LAS RATAS CONTROLES Y DESNUTRIDAS DE 30 DIAS DE EDAD.**

día	CONTROL			DESNUTRICION		
	L	O	LO	L	O	LO
1	36.8 (2.1)	55.5 (3.9)	46.2 (2.9)	27.2 (4.0)	31.8 (6.4)	29.5 (4.8)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	33.8 (3.1)	41.5c (3.6)	37.6b (2.4)	36.2b (3.0)	41.5a (3.5)	38.9c (2.4)
4	31.8 (2.7)	50.9 (1.7)	41.3 (1.2)	40.8c (2.9)	42.7a (2.5)	41.7c (2.4)
5	34.4 (2.4)	50.2 (2.4)	42.4 (1.3)	39.6c (3.4)	47.6c (2.4)	43.6c (2.8)
<b>SOL</b>						
1	49.5 (2.6)	35.4 (4.1)	42.5 (3.2)	59.9 (4.7)	54.5 (6.0)	57.2 (4.6)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	43.2b (1.7)	45.7c (3.5)	44.5 (2.0)	45.9c (2.2)	44.6b (1.8)	45.2c (1.4)
4	54.2 (2.1)	36.9 (1.5)	45.5 (1.2)	50.9b (2.2)	44.5b (2.4)	47.7c (1.8)
5	51.6 (2.2)	38.5 (1.6)	45.0 (1.1)	51.5a (2.6)	41.5b (1.0)	46.5c (1.1)
<b>SMOR</b>						
1	13.7 (1.4)	9.0 (1.2)	11.7 (1.1)	12.9 (1.1)	13.7 (1.4)	13.3 (0.8)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	23.0c (1.9)	12.1 (1.7)	17.9c (1.5)	17.9b (1.8)	13.8 (2.3)	15.9 (1.9)
4	14.0 (1.5)	12.3 (1.1)	13.1 (1.1)	8.3b (1.3)	12.8 (2.4)	10.5a (1.8)
5	14.0 (1.4)	11.3 (1.3)	12.7 (1.2)	8.9b (1.6)	10.9 (2.1)	9.9b (1.6)

Los valores son el promedio ( $\pm$  EE), n=6 expresado como porcentaje de los estados de vigilancia. a  $p < 0.05$  b  $p < 0.01$  c  $p < 0.001$ . Día 1 vs cada día después de la privación (Prueba de t Student, de 2 colas).

figura, la respuesta de las ratas control a la privación de sueño fue de disminuir su porcentaje de VIG, mientras que de las desnutridas fue aumentarlo.

Al analizar el SOL en los sujetos de esta edad (30 días), se encontró que en el día 1, las ratas desnutridas tuvieron un porcentaje mayor que las controles en ambas fases del ciclo. En tanto que durante los días de recuperación, no se encontraron diferencias significativas en relación a la dieta.

El SMOR en el día 1, se encontró significativamente aumentado en la fase de actividad de los sujetos desnutridos comparado con los controles. Y a su vez, la respuesta compensatoria fue significativamente menor en las desnutridas que en las controles, únicamente en la fase de reposo de los días experimentales 4 y 5.

La comparación entre el día basal 1 y los días de recuperación, también se indica en la Tabla 1.

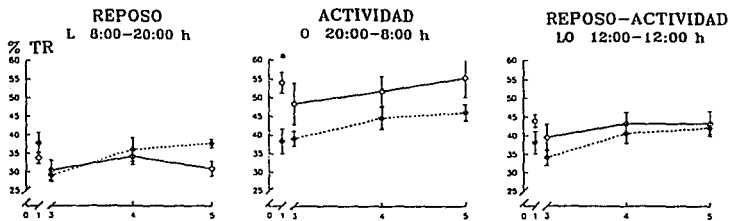
## 2.2. Ratitas de 60 días de edad

### 2.2.1 Día 1 experimental

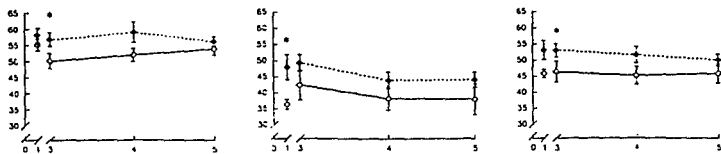
En cuanto a los animales de 60 días de edad, en la figura 20 se muestra que las ratas desnutridas tuvieron significativamente menos VIG que las controles en la fase de actividad del día 1. En relación al SOL, los sujetos desnutridos de esta edad tuvieron un porcentaje mayor que los controles, principalmente en la fase de actividad del día 1. El SMOR en las ratas desnutridas estuvo significativamente reducido durante la fase de reposo del día 1, mientras que en la fase de actividad estuvo aumentado; sin embargo, este último no fue estadísticamente significativo.

60 DIAS

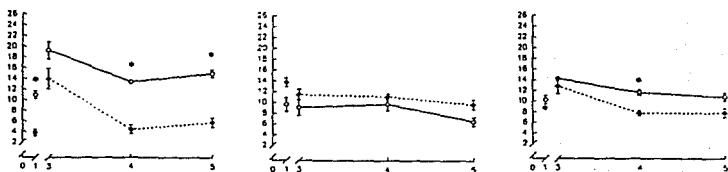
## VIGILIA



## SOL



## SMOR



DIAS EXPERIMENTALES

Fig. 20 Comparación de los porcentajes de los estados de vigilia de las ratas de 60 días de edad controles contra aquellos de las ratas desnutridas, durante las fases de reposo, actividad y de reposo-actividad de los días experimentales de registro.

\*  $p < 0.05$  Prueba de Tukey.



### 2.2.2 Periodo posterior a la privación de sueño

En general el porcentaje de VIG durante la fase de actividad de los días de recuperación fue menor en los desnutridos que en los controles, sin embargo éste no fue estadísticamente significativo.

Además, durante los días de recuperación los desnutridos tuvieron un porcentaje mayor de SOL que los controles. Este fue significativo solo en el día 3 experimental de la fase de reposo y al analizar ambas fases.

El "rebote" de SMOR fue menor en los sujetos desnutridos durante la fase de reposo. Esta disminución se reflejó al analizar ambas fases del día 4.

Desde el punto de vista circadiano, la tendencia de cada uno de los estados de vigilancia a presentarse principalmente en una de las fases del ciclo de LO estuvo claramente definida tanto en las ratas de 30 como en las de 60 días de edad. Es decir, en condiciones normales, las ratas de ambas edades pasan menos tiempo en VIG durante el periodo de luz y más durante el periodo de oscuridad; mientras que tanto el SOL como el SMOR, aumentan durante el periodo de luz y disminuyen durante la oscuridad. Por el contrario, las ratas desnutridas mostraron ciertas diferencias con las controles a este respecto, principalmente en los sujetos de 60 días de edad.

Específicamente, al analizar la VIG de las ratas desnutridas de 60 días de edad, estas no mostraron la diferencia circádica en su porcentaje en el periodo de luz y de oscuridad, observándose un porcentaje de VIG similar en ambos periodos.

Por otro lado, el SMOR de los sujetos desnutridos también tuvo algunas variaciones. En los animales de 30 días de edad, el porcentaje de SMOR fue muy similar en ambos periodos (luz y oscuridad), aunque se observó un ligero aumento

no significativo en el periodo de obscuridad. Mientras que en los sujetos de 60 días de edad, se observó una situación muy peculiar; durante el periodo de luz, las ratas desnutridas presentaron menos SMOR que las controles, y en el de obscuridad tuvieron más. En los animales controles sucede lo contrario, es decir tienen más SMOR en el periodo de luz y menor en el de obscuridad.

Por otra parte, la respuesta compensatoria de las ratas controles se dió primeramente, disminuyendo su porcentaje de VIG y aumentándolo progresivamente a los niveles normales, tanto en los sujetos de 30 como en los de 60 días. El SOL, por su parte, disminuye en la fase de reposo y se eleva en la de actividad del día 3, en ambas edades. En los siguientes días este tiende a estabilizarse a las cantidades basales del día 1. El rebote de SMOR en las ratas control de 30 días fue aumentando primero su porcentaje en la fase de reposo y en la de actividad del día 3. Mientras que en los sujetos de 60 días, aumenta durante la fase de reposo y disminuye en la de actividad del día 3. En los siguientes días de recuperación, la tendencia circadiana del SMOR de los desnutridos de ambas edades fue alcanzar los niveles normales, sin embargo estas mostraron una mayor dificultad para alcanzar los niveles normales a lo largo de los días de recuperación que se registraron. Adicionalmente, la Tabla 2 muestra la comparación entre el día basal y los días de recuperación.

### 2.3. Análisis del ciclo de sueño y vigilia por bloques de 4 horas.

#### 2.3.1 Ratitas de 30 días de edad

En un análisis mas detallado, en la figura 21 se muestran los estados de vigilancia respecto al tiempo total de registro de ratas control (C) y desnutridas (D)

**TABLA 2**

**COMPARACION ENTRE EL DIA BASAL Y LOS DIAS DE RECUPERACION DE CADA ESTADO DE VIGILANCIA DE LAS RATAS CONTROLES Y DESNUTRIDAS DE 60 DIAS DE EDAD.**

día	CONTROL			DESNUTRICION		
	L	O	LO	VIG L	O	LO
1	33.8 (1.5)	54.1 (2.7)	44.0 (1.6)	37.9 (2.8)	38.4 (3.3)	38.2 (3.0)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	30.5 (2.7)	48.5 (5.5)	39.5 (3.5)	29.1b (1.6)	39.1 (2.0)	34.1 (1.1)
4	34.3 (2.2)	52.0 (4.0)	43.2 (3.0)	36.2 (3.2)	44.9 (2.9)	40.6 (2.6)
5	31.0 (2.0)	55.6 (5.1)	43.3 (3.3)	37.9 (1.2)	46.3 (2.2)	42.1 (1.6)
<b>SOL</b>						
1	55.3 (1.8)	36.3 (1.5)	45.8 (1.3)	58.3 (2.2)	47.9 (3.9)	53.1 (2.9)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	50.3a (2.3)	42.4a (4.6)	46.3 (3.2)	56.9 (2.1)	49.3 (2.6)	53.1 (2.1)
4	52.2 (2.0)	38.2 (3.6)	45.2 (2.8)	59.2 (3.1)	43.9 (2.6)	51.6 (2.5)
5	54.0 (1.9)	37.9 (4.8)	45.9 (3.0)	56.3 (1.4)	44.0 (2.4)	50.1 (1.8)
<b>SMOR</b>						
1	10.9 (0.7)	9.6 (1.3)	10.2 (0.8)	3.8 (0.6)	13.7 (0.8)	8.7 (0.4)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	19.3c (1.6)	9.1 (1.5)	14.2b (0.4)	14.0c (1.9)	11.5 (1.0)	12.8b (1.4)
4	13.4a (0.4)	9.8 (1.2)	11.6 (0.5)	4.5 (0.8)	11.2 (0.5)	7.8 (0.5)
5	15.0b (0.7)	6.5a (0.8)	10.8 (0.7)	5.8a (0.9)	9.7b (0.9)	7.8 (0.8)

Los valores son el promedio ( $\pm$  EE), n=6 expresado como porcentaje de los estados de vigilancia. a p<0.05, b p<0.01 y c p<0.001. Prueba de t Student, de dos colas.

de 30 días de edad, indicados en bloques de 4 horas, durante las fases de luz y de oscuridad (indicadas como barras horizontales en blanco y negro, respectivamente) de cada día experimental. En el día 1, se observó que en los tres estados de vigilancia los cambios mas significativos se encontraron en los bloques correspondientes a la fase de oscuridad, principalmente para la VIG, y en menor grado para el SOL. Los animales desnutridos estuvieron menos tiempo en VIG que los controles en todos los bloques, sin embargo los valores fueron significativos solo en el periodo de oscuridad. Asimismo, los desnutridos exhibieron mayor porcentaje de SOL en todos los bloques, aunque solo se encontraron valores significativos al inicio de la oscuridad. Además, a pesar de no haber encontrado valores significativos en el SMOR, se puede apreciar en el desnutrido un patrón circadiano de SMOR distinto al del control. Ambos sujetos (control y desnutrido), tuvieron un aumento similar en su porcentaje de SMOR durante el periodo de luz. Los controles alcanzaron su valor máximo más tempranamente casi al inicio de la oscuridad y después su descenso fue mas rápido; mientras que los desnutridos alcanzaron su pico máximo después de iniciado el periodo de oscuridad, disminuyendo su porcentaje mas tardíamente. De esta manera, durante la oscuridad los sujetos desnutridos exhibieron un mayor porcentaje de SMOR que los controles, sin embargo los valores no fueron significativos.

Por otra parte, durante el día 3 (primer día de recuperación) únicamente se encontraron valores significativos en los dos primeros bloques, correspondientes al periodo de luz. Los sujetos desnutridos tuvieron un porcentaje disminuido de VIG en mayor proporción que los controles, notándose este efecto en el segundo bloque (periodo de luz) principalmente. Y al inicio de la recuperación, los sujetos desnutridos tuvieron más SOL que los controles (primer bloque). Asimismo, se

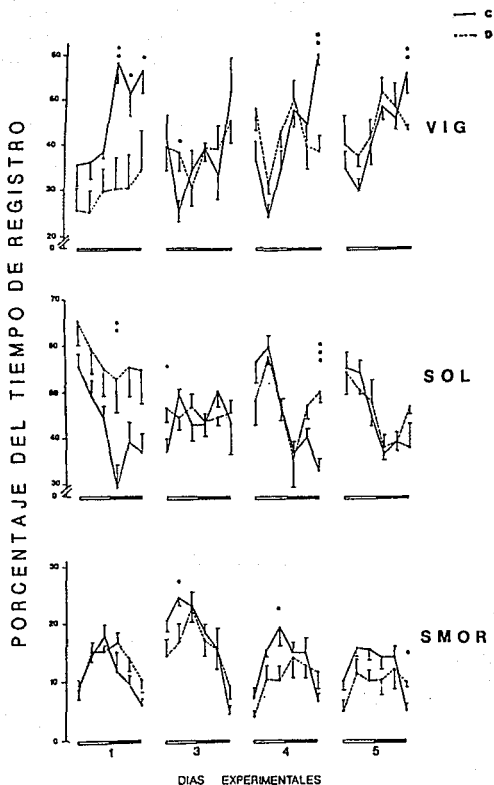


Fig. 21 Comparación entre los estados de vigilancia de las ratas de 30 días de edad controles (líneas continuas) contra aquellos de las desnutridas (líneas interrumpidas), en seis bloques de 4 horas en cada uno de los días experimentales. Significancias: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$  y \*\*\*  $p < 0.001$ . Prueba de t Student, de dos colas.

encontró una cantidad significativamente menor de SMOR en los desnutridos principalmente en el segundo bloque (periodo de luz).

Durante el día 4, los desnutridos tuvieron más VIG que los controles en los primeros 4 bloques, y en los 2 últimos ocurrió lo opuesto, los controles presentaron más VIG que los desnutridos, aunque únicamente fue significativo el último bloque. Lo contrario les sucedió a los desnutridos en el SOL, ya que tuvieron menos SOL en los 4 primeros bloques, y más en los 2 últimos, sólo el último de estos bloques fue significativo. En cuanto al SMOR, las ratas desnutridas tuvieron menor porcentaje durante los primeros 5 bloques comparado con los controles, sin embargo sólo el tercer bloque fue significativo.

Finalmente, como se observa en la figura 21, el patrón de VIG del desnutrido en el día 5, fue semejante al del día 4, encontrando valores significativos únicamente en el último bloque (periodo de oscuridad). Además, no obstante la menor cantidad de SMOR en los desnutridos en la mayoría de los bloques, el último de ellos tuvo una cantidad significativamente mayor que los controles.

### 2.3.2. Ratas de 60 días

Por su parte, durante el día 1 de las ratas de 60 días de edad (fig. 22), el patrón circádico analizado en bloques de 4 horas se modificó en forma drástica. De manera que los desnutridos tuvieron más VIG en los bloques correspondientes al periodo de luz y menos en aquellos del periodo de oscuridad, siendo significativo únicamente el último de ellos. En este mismo día experimental, los desnutridos continuaron presentando mayor porcentaje de SOL que los controles casi en la mayor parte de los bloques, sin embargo sólo el sexto bloque fue significativo.

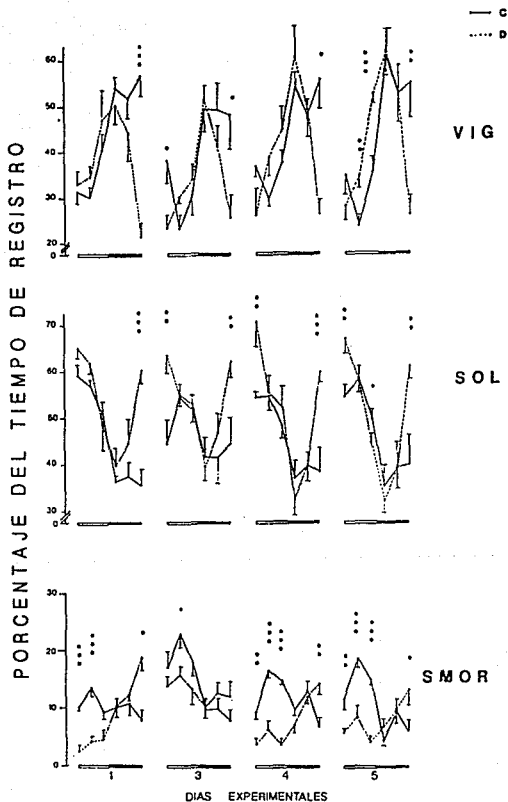


Fig. 22 Comparación entre los estados de vigilancia de las ratas de 60 días de edad controles contra aquellos de las desnutridas, en seis bloques de 4 horas de cada día experimental. Significancias : \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$  y \*\*\*  $p < 0.001$  Prueba de t Student, de dos colas

En cuanto al SMOR, en los bloques del periodo de luz se encontró una menor cantidad en los desnutridos y una mayor cantidad en aquellos del periodo de obscuridad. En el día 3 experimental, se apreciaron valores significativos para la VIG en los bloques cercanos al cambio de la fase de obscuridad a la luz, observándose una mayor cantidad de VIG. Lo contrario sucedió en el SOL, es decir, los desnutridos tuvieron una mayor cantidad de SOL que los controles. Respecto al SMOR, los desnutridos presentaron menor cantidad en los tres primeros bloques (el segundo de ellos fue significativo), y en los dos últimos se encontró una mayor cantidad.

Durante el día 4, los desnutridos mostraron mayor cantidad de VIG en la mayor parte de los bloques analizados, excepto en el primero y sexto bloques, en donde fue mayor. Asimismo, tuvieron más SOL que los controles, específicamente en los bloques 1 y 6. También en el día 4, tuvieron menos SMOR en los bloques del periodo de luz y más en el bloque 6.

En el día 5, continuaron mostrando más VIG en los bloques del periodo de luz y menos en el último. También en este día se observó que el SOL y el SMOR continuaron presentando las mismas tendencias exhibidas en los días 1, 3 y 4 experimentales. La cantidad de SOL fue mayor en el bloque 1 y 6, mientras que el SMOR de los desnutridos fue menor, en los bloques del periodo de luz y mayor en los de obscuridad.

De manera general, durante los días experimentales 1, 3, 4 y 5 de los animales de 60 días de edad desnutridos, la cantidad de VIG fue mayor en los bloques del periodo de luz y menor en los últimos del periodo de obscuridad. Lo desnutridos siempre tuvieron mayor cantidad de SOL en los bloques 1 y 6,



correspondientes al cambio de obscuridad a la luz. La cantidad de SMOR en los desnutridos fue menor en los bloques del periodo de luz y mayor en aquellos del periodo de obscuridad.

### III. CAMBIOS DEBIDOS A LA EDAD

En la Tabla 3, se muestran los porcentajes de cambio de los estados de vigilancia de los 30 a los 60 días de edad de las ratas controles y desnutridas, durante el día 1 (basal) y los días de recuperación.

#### 3.1. VIGILIA

Las ratas controles no mostraron cambios significativos entre los 30 y los 60 días de edad en los días experimentales. Mientras que las desnutridas, tuvieron un aumento en el porcentaje de VIG entre los 30 y 60 días en el periodo de luz del día 1 y disminuye en el mismo periodo del día 3 experimental (primer día de recuperación).

#### 3.2. SUEÑO DE ONDAS LENTAS

Los controles tienden a reducir su porcentaje de SOL en el periodo de luz del día 1 y a elevarlo en el día 3 en respuesta a la privación de sueño. Este último efecto también se presenta de manera significativa en las ratas desnutridas.

#### 3.3. SUEÑO DE MOVIMIENTO OCULARES RAPIDOS

Tanto los animales controles como los desnutridos tienen una tendencia a reducir su cantidad de SMOR conforme avanza la edad, sin embargo en las ratas

**TABLA 3**

**PORCENTAJES DE CAMBIO ENTRE LAS EDADES DE 30 Y 60 DIAS EN LOS ESTADOS DE VIGILANCIA DE LAS RATAS CONTROLES Y DESNUTRIDAS.**

día	CONTROL			DESNUTRICION		
	L	O	LO	L	O	LO
1	-8.05	-2.78	-0.37	+39.55b	+20.63	+29.34b
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	-9.76	+16.85	+4.92	-19.72b	-5.76	-12.26
4	+7.99	+2.29	+4.50	-11.11	+5.20	-2.78
5	-9.85	+10.70	+2.33	-4.42	-2.75	-3.49
	<b>SOL</b>					
1	-11.63a	+2.66	+7.88	-2.74	-12.18	-7.25
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	+16.28b	-7.32	+4.15	+24.04c	+10.05	+17.39c
4	-3.64	+3.57	-0.72	+16.40	-1.44	+8.09
5	+4.68	-1.49	+2.05	+9.27	+5.95	+7.80
	<b>SMOR</b>					
1	-20.53	+6.64	-9.69	-70.80c	+0.50	-34.12
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	-16.30	-28.76	-20.74a	-21.69	-16.67	-19.51c
4	-4.07	-20.28	-11.63	-45.84b	-12.52	-25.63a
5	+7.03	-42.41b	-15.13	-34.28a	-10.87	-21.34a

Los promedios de cada estado de vigilancia de los animales de 30 días de edad se consideraron como el 100% a p<0.05, b p<0.01 y c p<0.001 Prueba de t Student, de dos colas.

desnutridas esta reducción se presenta más drásticamente que en las controles, principalmente en el periodo de luz de los días experimentales.

#### IV. ANALISIS DE LOS ESTADOS DEL SUEÑO RESPECTO AL TIEMPO TOTAL DE SUEÑO (TTS) Y AL TIEMPO TOTAL DE REGISTRO (TOT)

##### 4.1 Ratas de 30 días de edad

Al analizar únicamente los estados que constituyen al sueño (fig. 23) en el día 1 de los animales de 30 días no se encontraron cambios significativos en el SOL/TTS y en el SMOR/TTS por efecto de la dieta. Por otro lado, cuando analizamos el TTS/TOT los desnutridos mostraron mayor cantidad que los controles en ambos periodos (L y O). Además, en la Tabla 4 se comparan los promedios del día basal con aquellos de los días de recuperación.

La respuesta compensatoria de las ratas desnutridas, comparada con aquella de las controles, se expresó principalmente en el periodo de luz del tercero al quinto día experimental, con una mayor proporción de SOL/TTS y menor de SMOR/TTS.

Posterior a la privación, no se encontraron diferencias significativas en el TTS/TOT entre los animales controles y los desnutridos de esta edad (30 días de edad). No obstante, en la Tabla 4, se observa que los sujetos desnutridos de esta edad tienen mayores dificultades para ajustarse nuevamente a los niveles porcentuales basales en comparación con los desnutridos, principalmente en el TTS/TOT.

30 DIAS

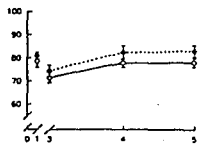
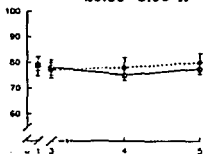
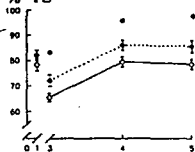
SOL/TTS

OBSCURIDAD  
20:00-8:00 h

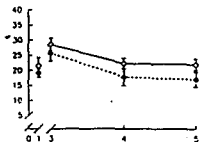
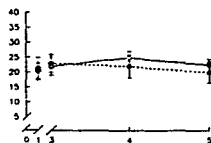
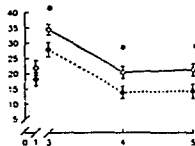
LUZ-OBSCURIDAD  
12:00-12:00 h

LUZ  
8:00-20:00 h

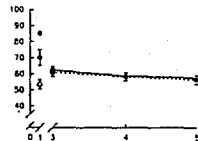
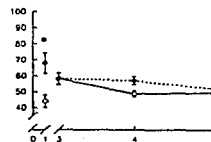
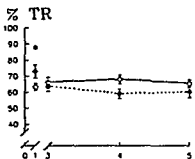
% TS



SMOR/TTS



TTS/TOT



Días Experimentales

Fig. 23 Comparación de las proporciones de SOL/TTS, SMOR/TTS y TTS/TOT, entre las ratas controles y desnutridas de 30 días de edad, durante los periodos de luz, oscuridad y de luz-oscuridad de cada uno de los días experimentales. Significancias: \*  $p < 0.05$  Prueba de Tukey.

**TABLA 4**

**COMPARACION ENTRE EL DIA BASAL Y LOS DIAS DE RECUPERACION EN CADA ESTADO DE SUEÑO DE LAS RATAS CONTROLES Y DESNUTRIDAS DE 30 DIAS DE EDAD.**

día	CONTROL			DESNUTRICION		
	L	O	LO	L	O	LO
	<b>SOL/TTS</b>					
1	78.2	79.2	78.8	81.7	79.7	80.7
	(2.1)	(3.4)	(2.0)	(1.6)	(1.9)	(1.2)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	65.5c	79.0	72.2b	72.9c	77.6	75.2b
	(1.3)	(2.5)	(1.8)	(2.1)	(2.4)	(1.6)
4	79.8	75.8	77.8	86.4a	76.9	81.6
	(2.1)	(1.8)	(1.4)	(1.7)	(3.6)	(2.1)
5	78.7	78.1	78.4	85.6	80.3	83.0
	(1.6)	(2.2)	(1.3)	(1.8)	(2.4)	(1.5)
	<b>SMOR/TTS</b>					
1	21.8	20.7	21.2	18.2	20.2	19.2
	(2.1)	(3.4)	(2.0)	(1.6)	(1.9)	(1.2)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	34.5c	21.0	27.7b	29.0c	22.4	24.7b
	(1.2)	(2.5)	(1.8)	(2.1)	(2.3)	(1.6)
4	20.1	24.1	22.1	13.6	23.0	18.3
	(2.1)	(1.8)	(1.4)	(1.7)	(3.6)	(2.1)
5	21.3	21.8	21.5	14.3	19.6	16.9
	(1.6)	(2.2)	(1.3)	(1.8)	(2.4)	(1.5)
	<b>TTS/TOT</b>					
1	62.2	44.3	53.8	72.8	68.1	70.5
	(1.7)	(2.6)	(2.2)	(2.5)	(4.1)	(2.4)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	66.2	58.4c	62.3b	63.7b	58.4a	61.1c
	(2.7)	(3.5)	(2.2)	(2.5)	(2.3)	(1.7)
4	68.2	49.1	58.6	59.2c	57.2a	58.2c
	(2.4)	(2.3)	(2.3)	(2.7)	(2.6)	(1.8)
5	65.5	49.8	57.6	60.3c	52.4b	56.3c
	(2.1)	(2.2)	(2.0)	(2.6)	(2.1)	(1.8)

Los valores son el promedio ( $\pm$  EE), n=6. a p<0.05, b p<0.01 y c p<0.001  
Prueba de t Student, de dos colas.

#### 4.2. Ratas de 60 días de edad

De manera semejante, las ratas de 60 días de edad desnutridas tuvieron un porcentaje significativamente mayor de SOL/TTS y menor de SMOR/TTS que las controles en el periodo de luz del día 1 (fig. 24). Este mismo efecto se encontró durante su respuesta compensatoria del día 3 al 5 experimental.

Por otra parte, la mayor cantidad de TTS/TOT en los desnutridos durante el día 1, se observó principalmente en el periodo de oscuridad. Además, en la Tabla 5 se observa que después de la privación, los sujetos controles y los desnutridos tuvieron reducciones significativas de SOL/TTS, principalmente en el periodo de luz. Esta disminución difiere en magnitud en ambos grupos experimentales. Asimismo, el aumento compensatorio del SMOR/TTS también se observó en ambos grupos, de igual manera en el periodo de luz. Finalmente, a los 60 días de edad el TTS/TOT de los desnutridos ya no presentó las modificaciones encontradas a la edad de 30 días, excepto una mayor cantidad en el periodo de luz del día 3.

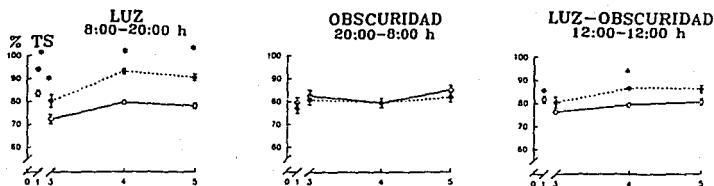
#### V. CAMBIOS EN LOS ESTADOS DE SUEÑO DEBIDOS A LA EDAD

Por último, al analizar los cambios porcentuales de los 30 a los 60 días de edad en los estados de sueño respecto al TTS, se encontró que sólo en el periodo de luz del día 1 los animales desnutridos tuvieron un aumento significativo del SOL/TTS (Tabla 6). Mientras que después de la privación de sueño, aumentó esta respuesta mayormente en las ratas desnutridas en el periodo de luz.

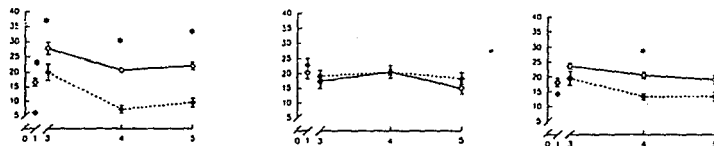
Por otra parte, tanto en el día 1 como en los días 3 y 4 experimentales, los desnutridos tuvieron disminuido el SMOR/TTS en el periodo de luz conforme avanza la edad. Respecto al TTS/TOT, la única diferencia por la edad se observó en el periodo de luz del día 1 en las ratas desnutridas.

60 DIAS

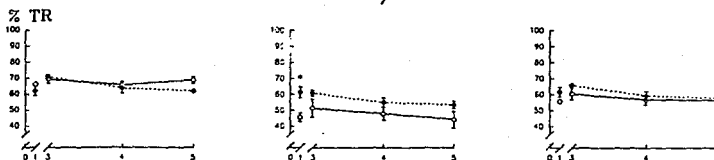
### SOL/TTS



### SMOR/TTS



### TTS/TOT



Días Experimentales

Fig. 24 Comparación de las proporciones de SOL/TTS, SMOR/TTS y TTS/TOT, entre las ratas controles y desnutridas de 60 días de edad, durante los periodos de luz, obscuridad y de luz-obscuridad de cada día experimental. Significancias: \*  $p < 0.05$  Prueba de Tukey.

**TABLA 5**

**COMPARACION ENTRE EL DIA BASAL Y LOS DIAS DE RECUPERACION DE CADA ESTADO DE SUEÑO DE LAS RATAS CONTROLES Y DESNUTRIDAS DE 60 DIAS DE EDAD.**

día	CONTROL			DESNUTRICION		
	L	O	LO	L	O	LO
	<b>SOL/TTS</b>					
1	83.6 (1.0)	79.9 (1.6)	81.7 (1.0)	94.1 (0.8)	77.4 (1.3)	85.7 (1.6)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	72.5c (1.6)	82.6 (1.6)	77.6b (1.4)	80.2c (1.7)	80.8 (1.4)	80.5b (1.1)
4	79.6b (1.2)	80.1 (1.9)	79.9 (1.1)	92.8 (0.9)	79.6 (1.4)	86.2 (1.4)
5	78.5c (1.2)	85.6b (1.5)	82.1 (1.1)	90.8a (1.1)	82.1a (1.6)	86.5 (1.2)
	<b>SMOR/TTS</b>					
1	16.4 (1.0)	20.1 (1.6)	18.3 (1.0)	5.9 (0.8)	22.6 (1.3)	14.3 (1.6)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	27.5c (1.6)	17.4 (1.6)	22.4b (1.4)	19.8c (1.7)	19.2 (1.5)	19.5b (1.1)
4	20.4b (1.2)	19.9 (1.9)	20.1 (1.1)	7.2 (0.9)	20.4 (1.4)	13.8 (1.4)
5	21.5a (1.2)	14.4b (1.5)	17.9 (1.1)	9.2a (1.1)	17.9a (1.6)	13.5 (1.2)
	<b>TTS/TOT</b>					
1	66.2 (1.7)	45.9 (2.2)	56.0 (2.2)	62.0 (2.7)	61.6 (3.8)	61.8 (2.3)
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	69.5 (2.6)	51.5 (3.2)	60.5 (2.5)	70.9b (1.8)	60.8 (3.4)	65.9 (2.0)
4	65.6 (1.8)	47.9 (2.8)	56.8 (2.2)	63.7 (3.2)	55.0 (4.1)	59.4 (2.6)
5	68.9 (2.1)	44.4 (3.4)	56.7 (2.8)	62.1 (2.9)	53.7 (4.5)	57.9 (2.7)

Los valores son el promedio ( $\pm$  EE), n=6. a p<0.05, b p<0.01 y c p<0.001. Prueba de t Student, de dos colas.



TABLA 6

PORCENTAJES DE CAMBIO ENTRE LAS EDADES DE 30 Y 60 DÍAS EN LOS ESTADOS DE SUEÑO DE LAS RATAS CONTROLES Y DESNUTRIDAS.

día	CONTROL			DESNUTRICION		
	L	O	LO	SOL/TTS L	O	LO
1	+6.91	+0.82	+3.84	+15.10*	-2.84	+6.22
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	+10.82*	+4.55	+7.39	+10.06*	+4.17	+7.04
4	-0.26	+5.69	+2.64	+7.50*	+3.59	+5.65
5	-0.29	+9.66*	+4.66	+6.02	+2.26	+4.21
	SMOR/TTS					
1	-24.86	-3.13	-14.25	-67.74*	+11.29	-26.12
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	-20.54*	-17.14	-19.24	-27.11*	-14.47	-21.43
4	+1.04	-17.88	-9.29	-47.64*	-11.92	-25.19
5	+1.08	-34.53*	-16.96	-30.00	-9.26	-20.54
	TTS/TOT					
1	+4.68	+3.47	+4.18	-14.76*	-9.63	-12.28*
2	----- 24 h Privación de sueño -----					
3	+4.96	-11.95	-2.96	+11.21	+4.08	-7.78
4	-3.72	-2.42	-3.18	+7.66	-3.89	+1.97
5	+5.20	-10.80	-1.69	+2.91	+2.48	+2.71

Se consideraron como el 100% los promedios de las ratas de 60 días en cada estado de sueño. \* p<0.05, ANOVA de una vía y Prueba de Tukey.

## DISCUSION

En el presente estudio se determinó el efecto de la privación total de sueño en ratas de 30 y 60 días de edad, alimentadas con una dieta normal (controles) y ratas alimentadas con una dieta hipoproteínica (desnutridas) de manera crónica. En condiciones basales de registro, se encontró que la desnutrición hipoproteínica en ratas provoca cambios cuantitativos en los estados de vigilancia en ambas fases del ciclo de reposo y actividad. Asimismo, se encontraron variaciones nictemerales en los estados del sueño (SOL y SMOR), manifestadas por "cambios de fase".

Por otra parte, la respuesta compensatoria o "rebote" del sueño MOR y del SOL en las ratas desnutridas estuvo disminuida y aumentada respectivamente, con respecto a la observada en las controles. De acuerdo a los hallazgos del presente estudio, se sugiere que la desnutrición hipoproteínica crónica en ratas jóvenes interfiere en ciertos procesos de maduración de las estructuras y/o mecanismos cerebrales responsables de la homeostásis del sueño y de la ritmicidad circadiana del ciclo de sueño y vigilia.

El efecto de la desnutrición proteínica pre y posnatal en las ratas sometidas al consumo de una dieta con bajo contenido de proteína (6% caseína), se expresó en primer lugar, por la reducción del peso corporal de las ratas desnutridas (6/6) de 30 y 60 días de edad empleadas en este estudio. Previamente, Resnick y cols. (1982) y Resnick y Morgane (1983,1984) aplicando el mismo paradigma de desnutrición, mostraron que las ratas sometidas al consumo de una dieta hipoproteínica pre y posnatal (6/6) no exhiben un crecimiento normal, por lo cual se les considera "pequeñas para su edad". Junto con la reducción del peso corporal, Resnick y cols.

(1982) encontraron también una reducción significativa del peso cerebral en ratas, a partir del primer día de edad hasta los 220 días. Es importante hacer notar, que las deficiencias de peso corporal observadas en los animales desnutridos empleados en este paradigma de desnutrición, fueron por mucho, superiores a las obtenidas con otros modelos, tales como el aumento en el número de la camada (Dobbing y cols., 1968), la reducción de la cantidad de alimento (Warren y Bedi, 1985) y la separación temporal de las crías de la madre (Salas y Torrero, 1979).

Respecto a los estados de vigilancia, primeramente, el porcentaje menor de VIG mostrado por los animales desnutridos en ambas fases del día 1 (basal), resaltan la dificultad de estos animales para manejar la información exteroceptiva. Situación que se manifiesta de manera conductual, como apatía, pasividad e incapacidad para sostener la atención (Stroebe y Zimmerman, 1971), reducción de la conducta exploratoria y de la curiosidad (Franková, 1973a,b), evasión a los estímulos novedosos (Stroebe y Zimmerman, 1972), así como también, un menor contacto social con otros animales. Por lo que, de acuerdo a Barnes (1976), los animales severamente desnutridos exhiben "evasión conductual y privación funcional" de situaciones y estímulos novedosos.

Por otro lado, la mayor cantidad de SOL encontrada en las ratas desnutridas de ambas edades y fases del ciclo del presente estudio, implican la existencia de dos situaciones distintas. Primero, desde el punto de vista ontogénico, Jouvett-Mounier y cols. (1970) determinaron que los primeros signos poligráficos de SOL en la rata se presentan entre los 11 y 13 días de edad, sin embargo se ha mencionado que a partir de los primeros días posnatales el SOL comienza a incrementar. Por su parte, Ibuka (1984) mostró que el SOL experimenta cambios cuantitativos aún a las

5.5 semanas de edad, tanto en la cantidad como en el periodo. Así como se modifica la cantidad de sueño conforme avanza la edad, recientemente Alföldi y cols. (1990) encontraron que la expresión nictemeral del SOL de ratas normales muestra cambios entre los 23 y 40 días de edad. Con base en los datos anteriores, queda claro que las ratas de 30 y 60 días de edad del presente estudio se encontraban aún en una situación de inmadurez de sus estados de sueño. Los reportes de Morgane y cols. (1978) y de Resnick (1988) apoyan la hipótesis de que existe un retraso en la maduración del SOL en las ratas desnutridas hipoproteínicamente.

Una segunda propuesta para explicar este efecto, se apoya en la estrecha relación existente entre la cantidad diaria de sueño y el rango metabólico basal en las ratas, en el sentido que la desnutrición hipoproteínica produce alteraciones del metabolismo basal, a pesar de que las dietas son hipercalóricas. Provocando con ello, que los sujetos desnutridos eviten gastar energía, pasando menos tiempo en VIG y más en SOL.

En cuanto al SMOR, en el día 1 se encontró que en las ratas desnutridas de ambas edades, el SMOR se manifestó de manera contraria respecto a los controles, ya que su porcentaje fue menor en la fase de reposo y mayor en la actividad (principalmente a los 60 días de edad), lo cual representa una alteración en su distribución durante el ciclo de LO. A este efecto también se le conoce como "cambio de fase" circádico. Previamente, Forbes y cols. (1977) reportaron que las ratas adultas con desnutrición hipoproteínica crónica ligera (8% de caseína pre y posnatal) exhibieron la modificación en la distribución del SMOR, sugiriendo que este efecto puede ser debido a la incapacidad de las ratas desnutridas para responder a los cambios en la condición de luz/obscuridad.

En relación a este efecto, se sabe que la síntesis y secreción circadiana de la melatonina (derivado de la serotonina) por la glándula pineal, y en algunas especies en la retina, es una expresión directa del sistema circadiano (Cassone, 1990), y que además, carece de ritmicidad independiente. Sin embargo, para su secreción es importante la relación que tiene con el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, que determina la ritmicidad circadiana de la melatonina, la cual se cuantifica midiendo la actividad de la enzima limitante de su síntesis, la serotonina-N-acetiltransferasa (Moore y Klein, 1974; Zatz, 1979). La secreción de la melatonina depende grandemente del ciclo de luz-obscuridad, donde la obscuridad estimula en mayor magnitud su síntesis, que la luz (Axelrod, 1974), y que además disminuye conforme avanza la edad (Waldhauser y cols., 1988). Sabemos además, que cada ritmo (incluso el de sueño y vigilia) tiene su propia "relación de fase" característica (en relación a su posición en el tiempo) respecto al ciclo de LO medio ambiental, y que de acuerdo a diversos estudios (Zatz, 1979; Moore-Ede y cols., 1983), la melatonina producida por la pineal es importante en los aspectos circadianos del "cambio de fase".

Kawakami y cols. (1972) reportaron que la pinealectomía provoca un ritmo circadiano bimodal de SMOR y una reducción en la amplitud del SOL y del SMOR en ratas adultas mantenidas en un ciclo de LO de 12:12 horas, de manera que la distribución diurna del episodio de SMOR está disociada de aquella del SOL. A partir de estos hallazgos, sugirieron que la pineal ejerce una influencia importante en el ritmo del SMOR, regulando los cambios en la luz y en la obscuridad.

En un estudio semejante, Mouret y cols. (1974) también encontraron que después de la extirpación de la glándula pineal, ocurre la disociación entre las variaciones nictemerales del SMOR y del SOL. Sin embargo, no encontraron

alteración en la cantidad de ambos estados de sueño durante las 24 horas, sino que el SMOR disminuyó durante la fase de luz del ciclo y aumentó durante la fase de oscuridad. Este mismo efecto se encontró en el día 1 del presente estudio en las ratas desnutridas hipoproteínicamente, por lo que pensamos que la glándula pineal (por lo tanto la melatonina) y su relación con el oscilador circádico (el núcleo supraquiasmático) están involucrados en la alteración de la organización circádica del SMOR de las ratas desnutridas.

Asimismo, se sabe que la lesión de los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) suprime diversos ritmos circadianos en los mamíferos, entre ellos el de sueño y vigilia, dando lugar a diferencias porcentuales en el SOL y el SMOR entre las horas de luz y de oscuridad de un ciclo de LO 12:12 horas. Es decir, la supresión de las manifestaciones conductuales y electrofisiológicas del ritmo circadiano de sueño y vigilia (Ibuka y Kawamura, 1975; Coindet y cols., 1975; Eastman y cols., 1984; Borbély y Tobler, 1985).

El estudio de Herbert y Reiter (1981), acerca del efecto de la malnutrición proteico-calórica sobre las concentraciones de melatonina pineal, en cierta forma apoya nuestra afirmación, ya que encontraron que la cantidad de melatonina se encuentra reducida en las ratas desnutridas respecto a los controles, sin embargo su patrón de secreción fue similar en ambas condiciones experimentales en un periodo de LO normal.

Debido a que entre el periodo prenatal y el primer mes de vida las células de la glándula pineal (Altar, 1982) y las del núcleo supraquiasmático de la rata (Shibata y cols., 1983) experimentan procesos maduracionales críticos para su funcionamiento subsecuente, durante esta etapa la influencia de la desnutrición se ha

hecho patente en algunos reportes, desde el punto de vista estructural (Weaker y Herbert, 1984; Galván-Rosas, 1988).

Adicionalmente, al realizar registros de sueño en ratas adultas alimentadas previamente con una dieta de 8% de proteína, Drucker-Colin y cols. (1976) encontraron que durante la fase de reposo las ratas desnutridas tuvieron un porcentaje reducido de SMOR comparado con aquel de las controles alimentadas con una dieta con un contenido normal de proteína, este resultado es semejante a la reducción drástica de SMOR durante la fase de reposo, mostrada en las ratas crónicamente desnutridas (6% de proteína) del presente estudio.

Por otra parte, Rusak y Bina (1990) reportaron que diversos neurotransmisores encontrados en el SNC, probablemente también participan en los mecanismos de sincronización de los ritmos circadianos, sin embargo no participan en su generación. Entre algunos de los neurotransmisores involucrados como mediadores de las señales fóticas y/o no fóticas se encuentran la acetilcolina, el glutamato, el ácido gamma-amino butírico (GABA), las benzodiazepinas (triazolam), el neuropéptido Y, la serotonina (5-HT) y la melatonina.

La respuesta fisiológica a la privación de sueño depende de la edad de los animales. En general, se observó la reducción de la vigilia en ambas fases, la disminución del SOL en el periodo de luz y el aumento en el de oscuridad del primer día de recuperación y un aumento del mismo en los siguientes días de recuperación en ambas fases. Además, un aumento compensatorio o "rebote" de SMOR cuya magnitud dependió de la edad. Estos datos fueron semejantes a los encontrados por Borbély y Neuhaus (1979) después de realizar la privación de sueño

en las ratas adultas, donde encontraron un marcado aumento en la duración y en la frecuencia del SMOR en el periodo de recuperación, junto con una reducción del sueño NMOR durante varias horas después de la privación, y en consecuencia, una reducción de la vigilia.

De manera detallada, Borbély y cols. (1984) y Tobler y Borbély (1986) analizaron el EEG de los estados de vigilancia de ratas adultas mediante el método del análisis de frecuencias. Después de un periodo de 24 horas de privación de sueño, reportaron un aumento en la actividad electroencefalográfica de ondas lentas (0.25-4.0 Hz) del sueño NMOR con una persistente tendencia a disminuir, y un aumento de la actividad theta (7.5-10.0 Hz) tanto en el sueño MOR como en la vigilia. En general, reportaron una disminución del sueño NMOR y un aumento del SMOR. De acuerdo a estos resultados, sugirieron que la actividad de ondas lentas del EEG del sueño NMOR y la actividad theta en el SMOR podrían reflejar la intensidad del sueño.

Por su parte, en el presente estudio se mostró que la respuesta compensatoria a la privación de sueño en las ratas desnutridas, respecto a las controles, depende de la edad de los sujetos y de la fase del ciclo en que se encuentran. De manera que las ratas desnutridas tienden a presentar, durante el periodo de recuperación, un porcentaje similar o mayor de VIG en la fase de reposo y un porcentaje menor en la de actividad. Además, tienen una mayor cantidad de SOL comparada con las controles, principalmente a la edad de 60 días. Por otro lado, las ratas desnutridas presentaron un "menor aumento compensatorio" de SMOR durante la fase de reposo, en tanto que en la fase de actividad, no se encontraron diferencias significativas.



La alteración de los mecanismos fisiológicos compensatorios expresada en los estados de vigilia de las ratas desnutridas, se manifestó también por la dificultad que tuvieron los sujetos de esta condición para retornar nuevamente a sus niveles porcentuales normales, ya que requirieron de un lapso mayor de recuperación comparado con el que requieren los controles, en particular en las ratas de 30 días de edad.

De acuerdo a los estudios de Tobler y Borbély (1986, 1990), la intensidad de la respuesta compensatoria del sueño NMOR y del sueño MOR dependen del tiempo previo de la vigilia, en este caso, de la duración y del momento en que se realiza la privación de sueño. Los periodos de 3 y 6 h de privación de sueño comenzando en la fase de reposo, producen respuestas compensatorias principalmente de sueño NMOR; en tanto que los periodos de privación de 24 horas, ejercen sus efectos compensatorios principalmente sobre el sueño MOR.

Asimismo, Alfvöldi y cols. (1990) demostraron que de acuerdo a la respuesta compensatoria de las ratas de 30 días de edad a la privación de sueño por manipulación suave, se observó que ya funciona el mecanismo homeostático que regula el sueño NMOR, ya que encontraron un aumento en la actividad electroencefalográfica de ondas lentas en las ratas de esta edad. A partir de nuestros resultados, se desprendería quizás una afirmación semejante, dado que las ratas controles de 30 días de edad privadas de sueño durante 24 horas por el método del cilindro rotatorio tuvieron su respuesta compensatoria, principalmente de SMOR.

Al analizar los cambios por la edad en ambas condiciones experimentales (control y desnutrido) del día basal de registro, fue interesante notar que en las ratas controles estas modificaciones ocurrieron en el periodo de luz (fase de reposo) del estado de vigilia con actividad sincronizada (SOL), mientras que en los sujetos

desnutridos sucedió en los estados con actividad desincronizada (VIG y SMOR) del mismo periodo. Encontramos además, que durante las 24 horas del día basal I, en los animales controles la proporción de vigilia (VIG) y sueño no varió entre la edad de 30 y 60 días (vigilia 46.2%, sueño 53% a los 30 días, y a los 60 días: vigilia 44% y sueño 56%). Sin embargo, los animales desnutridos mostraron una cantidad significativamente menor de vigilia y mayor de sueño durante las 24 horas a los 30 días de edad (vigilia 29.5% y sueño 70.5%), y a los 60 días continuaron presentando menos vigilia (30.25%) y más sueño (61.8%). En cuanto a la disminución del sueño MOR que ocurre entre los 30 y 60 días, se observó que se disminuye más durante la fase de luz, tanto en las ratas control como en las desnutridas, sin embargo en las ratas desnutridas, esta reducción fue de 70.8%, con lo que el sueño MOR se redujo de manera significativa con respecto al animal control. Estos resultados exhibieron cierta semejanza con los reportes previos en la rata y en otros mamíferos, en el sentido de que el sueño MOR se disminuye prominentemente durante los primeros meses de vida, mientras que el sueño total presenta pocos cambios (Ibuka, 1984; Jouvet-Mounier y cols., 1970).

Cuando analizamos únicamente los estados y el tiempo total de sueño en relación al tiempo total de registro en los sujetos de 30 días de edad, en el día I los animales desnutridos tuvieron más TTS/TOT en el periodo de luz que los controles; en tanto que a los 60 días, los animales desnutridos tuvieron significativamente mayor cantidad de SOL/TTS y menor de SMOR/TTS comparado con los controles. Por su parte, durante el periodo de recuperación de sueño, en ambas edades las diferencias se encontraron principalmente en el periodo de luz, en el que se observó un mayor "rebote" de SOL/TTS y menor de SMOR/TTS que los controles. El TTS/TOT no varió en ambas condiciones experimentales durante este periodo. De

esta manera se confirma aún más la afirmación respecto a que la cantidad de TTS no varía por efecto de la privación y otras manipulaciones experimentales.

En el curso de las tres últimas décadas, numerosos estudios han mostrado modificaciones en las variables anatómicas, fisiológicas, bioquímicas y conductuales de ratas con desnutrición proteínica crónica manifestadas a lo largo de la vida de los sujetos (Resnick, 1988). Estas modificaciones incluyen tanto el desarrollo retardado del SOL, de las bandas del EEG, del desarrollo senso-motor (apertura palpebral y auditiva), de las proporciones de luz-obscuridad disminuídas en el sueño MOR. Así como también, desde el punto de vista bioquímico, el aumento en los niveles regionales cerebrales de serotonina, 5-HIAA, noradrenalina, triptofano, y la reducción en la concentración de acetilcolina (Ach). De acuerdo a un estudio neuroanatómico, Cintra y Díaz-Cintra (1985) reportaron la alteración por la desnutrición proteínica crónica en diversos parámetros estructurales de las neuronas del núcleo del rafe dorsal y del locus coeruleus, que son serotoninérgicas y noradrenérgicas respectivamente. Desde el punto de vista electrofisiológico, Stern y cols. (1983) encontraron alteraciones en los patrones de descarga neuronal espontánea en las cortezas frontal y parietal y del tálamo medial de ratas adultas desnutridas. Estos cambios muestran la extensa gama de alteraciones por efecto de la desnutrición sobre las estructuras involucradas en alguno de los aspectos del sueño.

En un postulado reciente, Hobson (1989) manifestó que durante la vigilia existe una mayor participación de las neuronas aminérgicas (serotonina y noradrenalina), que de las neuronas colinérgicas. Durante el sueño NMOR,

mencionó que sucede algo similar a lo ocurrido durante la vigilia, solo que los niveles aminérgicos tienden a disminuir su participación y los colinérgicos a incrementarla. De manera que durante el SMOR predomina la participación de las neuronas colinérgicas sobre las neuronas aminérgicas, no obstante algunos estudios también han mostrado la participación de diversas sustancias inductoras de sueño NMOR y MOR (Pierón, 1913; Riou y cols., 1982i,ii,iii; Inoué y Borbély, 1985; Obál, 1986; Inoué y Schneider-Helmert, 1988).

De acuerdo a esta hipótesis, para llevar a cabo una respuesta compensatoria después de un periodo de privación de sueño, tanto los mecanismos electrofisiológicos como los bioquímicos deben responder de manera adecuada para lograr la restitución absoluta del sueño. Sin embargo, la desnutrición proteínica *per se* produce efectos bioquímicos adversos, como lo mostraron Rajalakshmi y cols. (1974) y Kulkarni y Gaitonde (1982). Quienes encontraron la reducción en la concentración de acetilcolina en las ratas con deficiencia de proteína durante el desarrollo. De acuerdo a lo anterior, se piensa que la menor respuesta compensatoria de SMOR encontrada en nuestro estudio tiene relación con la baja concentración de acetilcolina en las ratas desnutridas.

No obstante, desde hace algunos años, se sabe también que varias de las sustancias endógenas que inducen el sueño son péptidos que exhiben fluctuaciones durante el ciclo de luz-obscuridad, y que su expresión ocurre en algún momento del mismo. En consecuencia, es probable que la desnutrición proteínica también altere los niveles de estos péptidos, y junto con los niveles disminuidos de acetilcolina en las ratas desnutridas, quizás pudiera explicar parcialmente el porcentaje disminuido del SMOR y la reducida respuesta compensatoria del SMOR en los animales con desnutrición proteínica crónica.

Lo anterior se confirma aún más, por los hallazgos de Drucker-Colin y cols. (1975), respecto a que los niveles de proteína del tejido cerebral obtenido por la técnica de canulación "push-pull" de la formación reticular mesencefálica de gatos varían cíclicamente, y su nivel máximo coincide con la manifestación del sueño MOR. De esta manera se resalta el papel del metabolismo de las proteínas en relación a los procesos del sueño. Otras evidencias, han apoyado estas afirmaciones ya que la inhibición de la síntesis de proteínas disminuye el SMOR en ratas, y la hormona de crecimiento (hormona anabólica) incrementa el sueño MOR en ratas (Drucker-Colin y cols., 1975). En consecuencia, el sueño depende de los productos de la síntesis de proteínas, y puesto que las ratas desnutridas del presente estudio exhibieron alteraciones principalmente en el sueño MOR, quizás ésta pudiese ser otra de las explicaciones.

De manera similar, la mayor cantidad de SOL mostrada por las ratas desnutridas tanto antes como después de la privación de sueño, pudiese explicarse desde un punto de vista bioquímico, por los niveles elevados de serotonina y ácido 5-hidroxi-indolacético encontrados en diversas regiones cerebrales de las ratas con desnutrición proteínica crónica, entre el día de nacimiento hasta los 300 días de edad, que indican la modificación en el metabolismo serotoninérgico (Stern y cols., 1975).

Finalmente, es posible que la desnutrición altere no únicamente los procesos de maduración de los mecanismos de generación y mantenimiento de los estados de vigilancia, sino también la capacidad de integración de los osciladores circadianos responsables de estas funciones.

## CONCLUSIONES

*La desnutrición hipoproteínica crónica produce :*

- la alteración de los niveles porcentuales de los estados de vigilia.
- la disociación de la variación nictemeral del SMOR y la VIG, expresada como un "cambio de fase circádico", tanto antes como después de la privación de sueño.

*La privación total de sueño causó :*

- una menor respuesta compensatoria de SMOR en las ratas desnutridas comparada con la de los controles en ambas edades.
- la alteración del mecanismo homeostático del sueño, ya que en condiciones de desnutrición se requiere de un lapso mayor para alcanzar nuevamente los porcentajes normales.

*La desnutrición hipoproteínica crónica ocasionó un retraso en la maduración de los mecanismos neurales involucrados en los estados de vigilia, el cual se vió reflejado por los cambios en los componentes homeostático y circádico del sueño en las ratas desnutridas de ambas edades.*

## PERSPECTIVAS

Los hallazgos del presente estudio permitirán dirigir las investigaciones posiblemente hacia alguno de los siguientes aspectos:

\* De acuerdo a las alteraciones en los estados de vigilancia encontradas en las ratas con desnutrición hipoproteínica pre y posnatal del presente estudio, es apremiante saber si estos efectos también se encuentran en las ratas que hayan sido rehabilitadas nutricionalmente en la etapa posnatal del desarrollo, para así determinar si el daño fue causado pre o posnatalmente. De esta manera, un estudio de este tipo resulta sumamente viable.

\* Asimismo, sería de interés realizar un estudio en el que se analizarán los tipos de actividad electroencefalográfica que presentan los estados de vigilancia, tanto en ratas desnutridas como en ratas rehabilitadas nutricionalmente, y compararlos con aquellos de las ratas controles. En especial, de la actividad delta y theta del EEG, ya que según reportes previos, ambos tipos de actividad se consideran indicadores de la intensidad del sueño, y su abordaje resultaría fructífero debido a que se conoce en buena medida sus bases estructurales.

\* La privación selectiva del SMOR por la técnica de la plataforma en ratas desnutridas y rehabilitadas, aunada al análisis simultáneo de la actividad theta, en circunstancias similares a las del presente estudio, evaluaría de manera específica el efecto de la desnutrición perinatal sobre el SMOR.

\* Dado que la melatonina participa importantemente en diversas actividades fisiológicas que exhiben ritmos circadianos generados por el núcleo supraquiasmático, entre ellos el sueño y la vigilia, sería de sumo interés conocer ¿ que sucede con las concentraciones de la melatonina antes y después de la privación selectiva o total de sueño, en las ratas desnutridas y rehabilitadas nutricionalmente ?, o bien, ¿ que ocurriría si se administrara melatonina a las ratas desnutridas ? ¿Se reorganizaría el patrón circadiano alterado de los estados de sueño de las ratas desnutridas? Es muy probable que alguno de estos cuestionamientos resultase viable.

Por otra parte, estas preguntas y muchas otras aun por formularse, podrían ayudar a dilucidar la situación tan compleja en que se encuentra el ciclo de sueño y vigilia en los sujetos desnutridos. De esta manera, quizás en los años siguientes se logre comprender el papel de cada uno de los estados de vigilancia durante las etapas tempranas del desarrollo, y además se logre entender en que repercutirá la expresión alterada de los mismos en los animales desnutridos .

\* Para que funcionen los mecanismos que generan o mantienen una actividad fisiológica determinada, en este caso el sueño, se requiere de una estricta coordinación de los aspectos, tanto funcionales como bioquímicos, de las estructuras o circuitos que los componen. Es por eso que en un estado de desnutrición, estos y otros mecanismos probablemente se encuentren alterados por la desnutrición. Desde el punto de vista electrofisiológico, el estudio del SMOR en los sujetos desnutridos, probablemente pueda realizarse investigando la actividad theta del hipocampo durante el SMOR y la actividad de las espigas ponto-geniculo occipitales (PGO) en ratas desnutridas o rehabilitadas nutricionalmente, durante el periodo previo y posterior a la privación selectiva o total de sueño.



A su vez, desde el punto de vista neuroquímico, diversos estudios han mostrado que el análisis de la actividad enzimática durante el proceso de síntesis de la acetilcolina cerebral, ha contribuido a dilucidar ciertos fenómenos en el sistema colinérgico. De manera que, quizás determinando la actividad enzimática (acetilcolinesterasa o colina-acetiltransferasa) de este neurotransmisor en estructuras que tengan un papel importante en la generación y el mantenimiento del SMOR (como los núcleos tegmentales laterodorsal y pedunculopontino), probablemente se pueda dar una explicación a los cambios observados en el SMOR de los animales desnutridos del presente estudio. .

\* Desde el punto de vista ontogenético, estudiar cualquiera de los anteriores cuestionamientos, en animales de menor o mayor edad, redundaría en un mayor interés para el estudio de la ontogenia del sueño en animales desnutridos crónicamente o rehabilitados nutricionalmente en la etapa posnatal.

## APENDICE

En un estudio piloto, se intenta determinar como afecta la privación total de sueño los niveles de proteínas totales y de los neurotransmisores: noradrenalina (NA), dopamina (DA) y serotonina (5-HT) en los núcleos: supraquiasmático, rafe dorsal y locus coeruleus de los animales normales y desnutridos. Se cuantificaron al final del registro electroencefalográfico del presente estudio, en el que los animales tuvieron 35 días de edad, se realizó la privación de sueño nuevamente por 24 horas a las ratas de ambas edades y condiciones experimentales.

Al día siguiente de la privación, los animales fueron sacrificados por decapitación, realizando rápidamente la extracción del cerebro de la cavidad craneana, y disecando posteriormente el área que contiene a los núcleos rafe dorsal, locus coeruleus y el supraquiasmático, los cuales se colocaron en viales contenidos en un recipiente con hielo seco y se almacenaron por congelación para su análisis posterior con la técnica de HPLC.

En la Tabla 7, se presentan las medias y las desviaciones estándar de un número de muestras que varió de 1 a 4 por razones técnicas, cada muestra estuvo formada por el tejido cerebral de los núcleos mencionados de dos animales. En la Tabla 8, se muestra la comparación de las concentraciones de las proteínas totales y los neurotransmisores determinados entre los animales control y los desnutridos de dos edades.

Los presentes resultados son preliminares, de manera que en esta ocasión no se realizó ninguna prueba estadística. Sin embargo, la tendencia de los resultados

obtenidos de ratas privadas de sueño concuerdan con los datos reportados en la literatura, respecto a que los animales desnutridos poseen elevados niveles de aminas biogénicas desde el nacimiento hasta la edad de 300 días (Stern y cols., 1975; Resnick y Morgane, 1984). La tendencia que se pudo observar en la Tabla 8 de nuestros datos, muestra que después de la privación persisten, en general, los niveles elevados de dopamina, noradrenalina y serotonina en los animales desnutridos.

Aún es necesario realizar estas determinaciones con un mayor número de sujetos experimentales, así como también, es indispensable realizarlas en las ratas controles sin privarlas de sueño.

**TABLA 7**

Determinaciones bioquímicas por el método de HPLC en tres núcleos cerebrales de ratas Sprague-Dawley machos cuantificados inmediatamente después de un periodo de 24 horas de privación total de sueño por la técnica del cilindro giratorio.

30D-25/23 PROT	Núcleo Supraquiasmático				5-HT	
	NA	DA		5-HT		
mg	ng	ng/mg	ng	ng/mg	ng	ng/mg
0.4(4)	6.3(4)	15.2(4)	0.9(3)	1.9(4)	2.4(1)	4.7(3)
0.04	2.67	7.71	0.45	1.28	—	1.13
30D-6/6						
0.3(4)	5.3(4)	14.1(4)	1.3(2)	3.9(2)	5.0(2)	17.1(2)
0.10	6.56	13.19	0.50	0.07	0.23	5.65
60D-25/25						
0.5(3)	6.0(3)	12.1(3)	0.6(3)	1.2(3)	1.4(3)	2.8(2)
0.06	1.68	4.36	0.03	0.21	0.26	0.52
60D-6/6						
0.5(3)	13.2(3)	30.0(3)	1.4(3)	3.4(3)	3.4(3)	7.7(3)
0.19	3.41	13.92	0.70	2.03	0.59	3.01
30D-25/25	Núcleo rafe dorsal					
0.2(4)	2.3(4)	12.5(4)	1.1(1)	11.2(1)	—	—
0.13	1.57	10.56	—	—	—	—
30D-6/6						
0.4(4)	3.4(4)	8.4(4)	1.5(2)	3.6(2)	7.6(2)	18.6(2)
0.03	2.51	6.34	0.16	0.28	1.27	3.73
60D-25/25						
0.5(3)	3.1(3)	5.4(3)	0.2(1)	0.5(1)	2.0(3)	3.7(3)
0.08	1.19	1.64	—	—	0.71	0.71
60D-6/6						
0.4(3)	5.2(3)	15.8(3)	1.2(3)	3.9(3)	6.7(3)	19.9(3)
0.13	2.42	9.18	0.71	2.76	3.04	10.63
30D-25/25	Núcleo locus coeruleus					
0.5(4)	4.6(4)	7.8(4)	1.2(1)	2.1(1)	3.1(3)	5.5(1)
0.11	2.85	3.49	—	—	0.42	—
30D-6/6						
0.5(4)	6.0(4)	9.7(4)	1.4(3)	3.0(2)	6.4(4)	11.8(2)
0.10	6.48	9.59	1.29	1.88	1.53	2.09
60D-25/25						
0.7(3)	3.0(3)	4.2(3)	—	—	1.2(3)	1.6(3)
0.03	0.86	1.26	—	—	0.10	0.02
60D-6/6						
0.6(3)	4.2(3)	7.0(3)	0.5(2)	0.8(2)	4.6(3)	7.9(3)
0.09	0.39	1.32	0.14	0.35	2.37	4.59

Abreviaturas: PROT, proteína; NA, noradrenalina; DA, dopamina; 5-HT, 5-hidroxitriptamina; mg, miligramos; ng, nanogramos; D, días de edad; HPLC, cromatografía líquida de alta presión.

Las cantidades de cada una de las edades y condiciones nutricionales, indican la media (arriba) y la desviación estándar (abajo) de los datos. Las cantidades señaladas entre paréntesis indican el número de muestras determinadas, considerando que cada muestra correspondió al tejido obtenido de dos animales.

El sacrificio de los animales empleados y la obtención del tejido cerebral se realizó en el periodo de luz (fase de reposo) del inicio de la etapa de recuperación de sueño.

El presente análisis bioquímico fue realizado por la M. en C. Luz María Navarro en el Laboratorio del Dr. Carlos Valverde, en el Departamento de Fisiología del IIB, UNAM.

**TABLA 8**

Comparación de las concentraciones de proteína, noradrenalina, dopamina y 5-hidroxitriptamina de las ratas desnutridas (6/6%) respecto a las ratas controles (25/25%).

	PROT	NA	DA	5-HT
NSQ				
30 D	-	-	+	+
60 D	=	+	+	+
NRD				
30 D	+	+	?	?
60 D	-	+	+	+
NLC				
30 D	+	+	+	+
60 D	-	+	?	+

Los símbolos +, - y = indican la variación en la concentración de las sustancias indicadas en la tabla en las ratas desnutridas (6/6) de ambas edades respecto a las controles (25/25). El símbolo ? indica que no se realizó la determinación. Abreviaturas: PROT, proteína; NA, noradrenalina; DA, dopamina; 5-HT, 5-hidroxitriptamina; NSQ, núcleo supraquiasmático; NRD, núcleo del rafe dorsal; NLC, núcleo locus coeruleus; D, días.

**BIBLIOGRAFIA**

Agrawal, H.C., Davis, J.M. y Himwich, W.A. (1966): Postnatal changes in free amino acid pool of rat brain. *J. Neurochem.* 13: 607-615.

Agrawal, H.C., Glisson, S.N. y Himwich, W.A. (1966): Changes in monoamines of rat brain during postnatal ontogeny. *Biochim. Biophys. Acta* 130: 511-513.

Alfoldi, P., Tobler, I. y Borbély, A.A. (1990): Sleep regulation in rats during early development. *Am. J. Physiol. (Regulat. Int. Comp. Physiol. 27)* 258: R634-R644.

Altar, A. (1982): Development of the mammalian pineal gland. *Dev. Neurosci.* 5: 166-180.

Angevine, J.B. y Sidman, R.L. (1961): Autoradiographic study of cell migration during histogenesis of cerebral cortex in the mouse. *Nature (London)* 192: 766-768.

Axelrod, J. (1974): The pineal gland: a neurochemical transducer. *Science* 184: 1341-1348.

Barnes, R.H. (1976): Dual role of environmental deprivation and malnutrition in retarding intellectual development. *Am. J. Clin. Nutr.* 29: 912-917.

Bayer, S.A. y Altman, J. (1987): Directions in neurogenetic gradients and patterns of anatomical connections in the telencephalon. *Prog. Neurobiol.* 29: 57-106.

Blusztajn, J.K. y Wurtman, R.J. (1981): Choline biosynthesis by a preparation enriched in synaptosomes from rat brain. *Nature (London)* 290: 417-418.

Borbély, A.A. (1978): Effects of light on sleep and activity rhythms. *Prog. Neurobiol.* 10: 1-31.

Borbély, A.A., Huston, J.P. y Waser, P.G. (1975): Control of sleep states in the rat by short light-dark cycles. *Brain Res.*, 95: 89-101.

Borbély, A.A. y Neuhaus, H.V. (1979): Sleep deprivation: effects on sleep and EEG in the rat. *J. Comp. Physiol.* 133: 71-87.

Borbély, A.A. (1980): Environmental and endogenous factors influencing the onset and structure of sleep in the rat. En: *Sleep. Fourth European Congress on Sleep Research. Tirgu-Mures, 1978*, S. Karger, Basel. pp. 16-19.

Borbély, A.A., Baumann, F., Brandeis, D., Strauch, I. y Lehmann, D. (1981): Sleep deprivation: effect on sleep stages and EEG power density in man. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 51: 483-493.

Borbély, A.A. y Tobler, I. (1985): Homeostatic and circadian principles in sleep regulation in the rat. En: *Brain mechanisms of sleep*. D.J. McGinty, A. Morrison, R. Drucker-Colin y P.L. Parmeggiani (Eds.), New York, Raven Press, pp. 35-44.

Borbély, A.A., Tobler, I y Groos, G. (1983): Sleep homeostasis and the circadian sleep-wake rhythm. En: *Sleep Disorders: Basic and Clinical Research*. M. Chase y E.D. Weitzman (Eds.), Chap. 15, New York, Spectrum Pub., pp. 227-243.

Borbély, A.A., Tobler, I. y Hanagasioglu, M. (1984): Effect of sleep deprivation on sleep and EEG power spectra in the rat. *Behav. Brain Res.* 14: 171-182.

Bünning, E. (1973): *The Physiological Clock*, Springer, New York. pp. 258.

Cassone, V.M. (1990): Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. *Trends Neurosci.* 13(11): 457-464.

Cintra, L. y Díaz-Cintra, S. (1985): Efecto de la desnutrición proteínica en los núcleos rafe dorsal, locus coeruleus y en las células no piramidales de la corteza visual de la rata. *Rev. Chil. Nutr.* 13(2): 76-82.

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

Cohen, E.L. y Wurtman, R.J. (1976): Brain acetylcholine: control by dietary choline. *Science* 191: 561-562.

Coindet, J., Chauvet, G. y Mouret, J. (1975): Effects of suprachiasmatic nuclei lesions on paradoxical sleep and slow wave sleep circadian rhythms in the rat. *Neurosci. Lett.* 1: 243-247.

Colombo, P. (1982): The critical period concept: Research, methodology, and theoretical issues. *Psychol. Bull.* 91: 269-275.

Corner, M.A. y Bour, H.L. (1984): Postnatal development of spontaneous neuronal discharges in the pontine reticular formation of free-moving rats during sleep and wakefulness. *Exp. Brain Res.* 54: 66-72.

Daan, S., Beersma, G.M. y Borbély, A.A. (1984): Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *Am. J. Physiol.* 246 (Regulat. Int. Comp. Physiol. 15): R161-R178.

De Andrés, I. y Corpas, I. (1990): Control del Sistema Nervioso Central en los Estados de Vigilia y Sueño. En: *Avances en la Investigación del Sueño y sus Trastornos*, G. Buela-Casal y J.F. Navarro-Humanes (Comps.), Siglo Veintiuno de España, Madrid. pp. 61-77.

Depoortere, H. (1980): Some aspects of the polygraphic studies on sleep-wakefulness cycle in the rat. *Waking and Sleeping* 4: 47-62.

Dobbing, J. (1968): Vulnerable periods in developing brain. En: *Applied Neurochemistry*. A.N. Davison and J. Dobbing (Eds.), Blackwell, Oxford. pp. 287-316.

Dobbing, J. (1968): Effects of experimental undernutrition on development of the nervous system. En: *Malnutrition, Learning, and Behavior*. N.S. Scrimshaw and J. Gordon (Eds.), MIT Press, Cambridge.

Dobbing, J. (1970): Undernutrition and the developing brain. En: *Developmental Neurobiology*. W. Himwich (Ed.), CC Thomas, Springfield. pp. 241-261.

Dobbing, J. (1972): Vulnerable periods of brain development. En: CIBA Foundation Symposium, Eds., *Lipids, Malnutrition and Developing Brain*, Elsevier, Amsterdam. pp. 9-29.

Dobbing, J. (1990): Early nutrition and later achievement. *Proc. Nutr. Soc.* 49: 103-118.

Dobbing, J. y Sands, S. (1979): Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum. Dev.* 3(1): 79-83.



- Drucker-Colin, R.R., Spanis, C.W., Cotman, C.W. y McGaugh, J.L. (1975): Changes in protein levels in perfusates of freely moving cats: relation to behavioral state. *Science* 187: 963-965.
- Drucker-Colin, R.R., Shkurovich, M., Ugartechea, J.C., Domínguez, J. y Rojas-Ramírez, J.A. (1976): *Sleep patterns in malnutrition. Proceedings, 16th Annual Meeting, Society for the Psychophysiological Study of Sleep, Cincinnati*, p. 95.
- Dyson, S.E. y Jones, D.G. (1976): Some effects of undernutrition on synaptic development. A quantitative ultrastructural study. *Brain Res.* 114: 365-378.
- Eastman, C.I., Mistlberger, R.E. y Rechtschaffen, A. (1984): Suprachiasmatic nuclei lesions eliminate circadian temperature and sleep rhythms in the rat. *Physiol. Behav.* 32: 357-368.
- Enna, S.J., Yamamura, H.I. y Snyder, S.H. (1976): Development of muscarinic cholinergic and GABA receptor binding in chick embryo brain. *Brain Res.* 101: 177-183.
- Enwonwu, C.O. y Worthington, B.S. (1974): Concentrations of histamine in brain of guinea pig and rat during protein malnutrition. *Biochem. J.* 144: 601-603.
- Facon, E., Steriade, M. y Wertheim, N. (1958): Hypersomnie prolongée engendrée par des lésions bilatérales du système activateur médial: le syndrome thrombotique de la bifurcation du tronc basilaire. *Rev. Neurol. (Paris)* 98: 117-133.
- Fernstrom, J.D. (1983): Role of precursor availability in control of monoamine biosynthesis in brain. *Physiol. Rev.* 63: 484-546.
- Forbes, W.B., Tracy, C.A., Resnick, O. y Morgane, P.J. (1977): Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Exp. Neurol.* 57: 440-450.
- Franková, S. (1973a): Influence of the familiarity with the environment and early malnutrition on the avoidance learning and behavior in rats. *Act. Nerv. Sup.* 15: 207-216.
- Franková, S. (1973b): Effect of protein-calories malnutrition on the development of social behavior in the rat. *Dev. Psychobiol.* 6: 33-43.

Gallager, D.W. (1982): Spontaneous unit activity of neurons within the dorsal raphe nucleus of the neonatal rat. *Life Sci.* 30: 2109-2113.

Galván-Rosas, A.J. (1988): Efecto de la desnutrición proteínica sobre el núcleo supraquiasmático: Un estudio morfométrico comparativo en ratas de la cepa Sprague-Dawley. *Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot., UNAM, 1988.*

Gibson, C.J. y Wurtman, R.J. (1977): Physiological control of brain catecholamine synthesis by tyrosine concentrations. *Biochem. Pharmacol.* 26: 1137-1142.

Gramsbergen, A. (1976): EEG development in normal and undernourished rats. *Brain Res.* 105: 287-308.

Herbert, D.C. y Reiter, R.J. (1981): Influence of protein-calorie malnutrition on the circadian rhythm of pineal melatonin in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 166: 360-363.

Herschkowitz, H. y Rossi, E. (1972): Critical periods in brain development. En: *Lipids, Malnutrition and the Developing Brain.* CIBA Foundation Symposium (Eds.), Elsevier, Amsterdam. pp. 107-119.

Hobson, J.A. (1989): *Sleep*, Scientific American Library, New York. pp. 116-141.

Ibuka, N. (1984): Ontogenesis of circadian sleep-wakefulness rhythms and developmental changes of sleep in the altricial rat and in the precocial guinea pig. *Behav. Brain Res.* 11: 185-196.

Ibuka, N. y Kawamura, H. (1975): Analysis of sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. *Brain Res.* 96: 76-81.

Inoué, S. y Borbély, A.A. (1985): *Endogenous Sleep Substances and Sleep Regulation*, Tokyo: Japan Scientific Societies Press y Netherlands: VNU Science Press BV Utrecht. Tokyo. pp. 266.

Inoué, S. y Schneider-Helmert, D. (1988): *Sleep Peptides. Basic and Clinical Approaches.* Japan Scientific Societies Press y Springer-Verlag, Tokyo. pp. 208.

Jones, B.E. (1989): Basic mechanisms of sleep-wake states. En: *Principles and Practice of Sleep Medicine*, M.H. Kryger, T. Roth y W.C. Dement (Eds.), Chap. 10., Saunders Co., Philadelphia. pp. 121-138.

Jones, B.E. (1991): Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. Commentary. *Neuroscience* 40(3): 637-656.

Jouvet-Mounier, D., Astic, L. y Lacote, D. (1970): Ontogenesis of the states of sleep in rat, cat, and guinea-pig during the first postnatal month. *Dev. Psychobiol.* 2: 216-239.

Kawakami, M., Yamaoka, S. y Yamaguchi, T. (1972): Influence of light and hormones upon circadian rhythm of EEG slow wave and paradoxical sleep. En: *Advances in Climatic Physiology*, Chap. 21. S. Itoh, K. Ogata y H. Yoshimura (Eds.), Springer-Verlag, Tokyo. pp. 349-366.

Kimura, F. y Nakamura, S. (1985): Locus coeruleus neurons in the neonatal rat: electrical activity and responses to sensory stimulation. *Dev. Brain Res.* 23: 301-305.

Kleitman, N. (1963): *Sleep and wakefulness*. The University of Chicago Press, Chicago. pp. 215-229.

Kulkarni, A.B. y Gaitonde, B.B. (1982): Effects of early undernutrition and subsequent rehabilitation on acetylcholine levels in rat brain. *Experientia* 38: 377-378.

Lamfurney, L. y Jacobs, B.L. (1982): Developmental analysis of raphe dorsalis unit activity in the rat. *Brain Res.* 242: 317-320.

Lauder, J.M. y Bloom, F.E. (1974): Ontogeny of monoamine neurons in the locus coeruleus, raphe nuclei and substantia nigra of the rat. I. Cell differentiation. *J. Comp. Neurol.* 155: 469-482.

Lauder, J.M., Wallace, J.A., Krebs, H., Petrusz, P. y McCarthy, K. (1982): In vivo and in vitro development of serotonergic neurons. *Brain Res. Bull.* 9: 605-625.

Llinás, R.R. y Paré, D. (1991): Of dreaming and wakefulness. *Neuroscience* 44: 521-535.

Maher, T.J. y Wurtman, R.J. (1980): L-Threonine administration increases glycine concentrations in the rat central nervous system. *Life Sci.* 26: 1283-1286.

Miale, I. y Sidman, R.L. (1961): An autoradiographic analysis of histogenesis in the mouse cerebellum. *Exp. Neurol.* 4: 277-296.

Mistlberger, R., Bergmann, B., Waldemar, W. y Rechtschaffen, A. (1983): Recovery sleep following sleep deprivation in intact and suprachiasmatic nuclei lesioned rats. *Sleep* 10: 508-522.

Moore, R.Y. y Klein, D.C. (1974): Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Res.* 71: 17-33.

Moore-Ede, M.C., Czeisler, C.A. y Richardson, G.S. (1983): Circadian timekeeping in health and disease. Medical progress. *New Engl. J. Med.* 309: 469-476 & 530-536, Aug 25 & Sep 1.

Morgane, P.J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, J., Hawrylewicz, E. y Resnick, O. (1978): The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2: 137-230.

Morgane, P.J., Austin, K.B., Palmer, S.J. y Austin-LaFrance, R.J. (1990): Prenatal protein malnutrition results in the loss of behaviorally-mediated theta frequency shifting. *Soc. Neurosci. Abstr.* 16: 35.

Morgane, P.J., Austin-LaFrance, R.J., Bronzino, J., Tonkiss, J. y Galler, J.R. (1992): Malnutrition and the developing central nervous system. En: *The Vulnerable Brain and Environmental Risks. Vol. 1, Malnutrition and Hazard Assessment.* R.L. Isaacson y K.F. Jensen, (Eds.), Plenum Press, New York. pp. 3-44.

Morgane, P.J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. y Galler, J.R. (1993): Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 17: 91-128.

Moruzzi, G. y Magoun, H.W. (1949): Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1: 455-473.

Mourcet, J., Coindet, J. y Chouvet, G. (1974): Effet de la pinealectomie sur les états et rythmes de sommeil du rat mâle. *Brain Res.* 81: 97-105.

Obál, F. (1986): Effects of peptides (DSIP, DSIP analogues, VIP, GRF and CCK) on sleep in the rat. 15th Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum. *Clin. Neuropharmacol.* 9(S4): 459-461.

Pierón, H. (1913): *Le Probleme Physiologique du Sommeil*. Masson, Paris.

Rajalakshmi, R., Kulkarni, A.B. y Ramakrishnan, C.V. (1974): Effects of pre-weaning and post-weaning undernutrition on acetylcholine levels in rat brain. *J. Neurochem.* 23: 119-121.

Rechtschaffen, A., Gilliland, M.A., Bergmann, B.M. y T.B. Winter (1983): Physiological correlates of prolonged sleep deprivation in rats. *Science* 221: 182-184.

Rechtschaffen, A., Bergmann, B.M., Everson, C.A., Kushida, C.A. y Gilliland, M.A. (1989): Sleep deprivation in the rat: I. Conceptual issues. *Sleep* 12(1): 1-4.

Rechtschaffen, A., Bergmann, B.M., Everson, C.A., Kushida, C.A. y Gilliland, M.A. (1989): Sleep deprivation in the rat: X. Integration and discussion of the findings. *Sleep* 12(1): 68-87.

Resnick, O. (1988): Nutrition, neurotransmitter regulation, and developmental pharmacology. En: *Preventive and Curative Intervention in Mental Retardation*. F.J. Menolascino y J.A. Stark (Eds.), Paul H. Brooks, Baltimore, MD. pp. 161-175.

Resnick, O. y Morgane, P.J. (1983): Animal models for small-for-gestational-age (SGA) neonates and infants-at-risk (IAR). *Dev. Brain Res.* 10: 221-225.

Resnick, O. y Morgane, P.J. (1984): Ontogeny of the levels of serotonin in various parts of the brain in severely protein malnourished rats. *Brain Res.* 303: 163-170.

Resnick, O., Morgane, P.J., Hasson, R. y Miller, M. (1982): Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 6: 55-75.

- Riou, F., Cespuglio, R. y Jouvet, M. (1982): Endogenous peptides and sleep in the rat: I. Peptides decreasing paradoxical sleep. *Neuropeptides* 2: 243-254.
- Riou, F., Cespuglio, R. y Jouvet, M. (1982): Endogenous peptides and sleep in the rat: II. Peptides without significant effect on the sleep-waking cycle. *Neuropeptides* 2: 255-264.
- Riou, F., Cespuglio, R. y Jouvet, M. (1982): Endogenous peptides and sleep in the rat. III. The hypnogenic properties of vasoactive intestinal polypeptide. *Neuropeptides* 2: 265.
- Rodier, P. (1976): Critical periods for behavioral anomalies in mice. *Environm. Health Perspect.* 18: 79-83.
- Rodier, P. (1980): Chronology of neuron development: Animal studies and their clinical implications. *Dev. Med. Child Neurol.* 22: 525-545.
- Rosenberg, R.S., Bergmann, B.M. y Rechtschaffen, A. (1976): Variations in slow wave activity during sleep in the rat. *Physiol. Behav.* 17: 931-938.
- Rusak, B. y Bina, K. G. (1990): Neurotransmitters in the mammalian circadian system. *Annu. Rev. Neurosci.* 13: 387-401.
- Salas, M. y Cintra, L. (1975): Development of electroencephalogram during starvation in the rat. *Physiol. Behav.* 14: 589-593.
- Salas, M. y Torrero, C. (1979): Maternal behavior of rats undernourished in the early postnatal period. *Bol. Estud. Méd. Biol. Univ. Nac. Autón. Méx.* 30: 237-244.
- Schlumpf, M., Palacios, J.M., Cortéz, R. y Lichtensteiger, W. (1991): Regional development of muscarinic cholinergic binding sites in the prenatal rat brain. *Neuroscience*, 45(2): 347-357.
- Scott, J.P. (1979): Critical periods in organizational processes. En: *Human Growth: Neurobiology and Nutrition*. F. Falkner y J. Tanner (Eds.), Plenum Press, New York. pp. 223-241.
- Semba, K. y Fibiger, H.C. (1988): Time of origin of cholinergic neurons in the rat basal forebrain. *J. Comp. Neurol.* 269: 87-95.

Shibata, S., Liou, S.Y. y Ueki, S. (1983): Development of the circadian rhythm of neuronal activity in suprachiasmatic nucleus of rat hypothalamic slices. *Neurosci. Lett.* 43: 231-234.

Silver, A. (1974): *The Biology of Cholinesterases*. North-Holland, Amsterdam.

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

Smart, J.L. (1991): Critical periods in brain development. En: *The Childhood Environment and Adult Disease*. CIBA Found. Symp. (Eds.), Wiley, Chichester. pp. 109-128.

Steriade, M. (1984): The excitatory-inhibitory response sequence of thalamic and neocortical cells: State related changes and regulatory systems. En: *Dynamic Aspects of Neocortical Function*. G.M. Edelman, W.E. Gall y W.M. Cowan (Eds.), Wiley, New York. pp. 107-157.

Steriade, M. (1991): Alertness, quiet sleep, dreaming. En: *Cerebral Cortex, Vol. 9*. Alan Peters Ed., Chap 8., Plenum Pub., New York. pp. 279-357.

Stern, W.C., Miller, M., Forbes, W.B., Morgane, P.J. y 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. *Exp. Neurol.* 49: 314-326.

Stern, W.C., Pugh, W.W., Johnson, A. y Morgane, P.J. (1983): Spontaneous forebrain neuronal activity in developmentally protein malnourished rats. *Dev. Brain Res.* 9: 95-98.

Stroebel, D.A. y Zimmerman, R.R. (1972): Manipulatory responsiveness in protein-malnourished monkeys. *Psychonom. Sci.* 24: 291-296.

Stroebel, D.A. y Zimmerman, R.R. (1972): Responsiveness in protein-malnourished monkeys. *Dev. Psychobiol.* 5: 291-296.

Timo-Iaria, C., Negrao, N., Schmidek, W.R., Hoshino, K., De Menezes, C.E.L. y da Rocha, T.L. (1970): Phases and states of sleep in the rat. *Physiol. Behav.* 5(9): 1057-1062.

Tobler, I. y Borbély, A.A. (1986): Sleep in the rat as a function of prior waking. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 64: 74-76.

Tobler, I. y Borbély, A.A. (1990): The effect of 3-h and 6-h sleep deprivation on sleep and EEG spectra of the rat. *Behav. Brain Res.* 36: 73-78.

Trachsel, L., Tobler, I. y Borbély, A.A. (1986): Sleep regulation in rats: effects of sleep deprivation, light, and circadian phase. *Am. J. Physiol. (Regulat. Int. Comp. Physiol.* 20) 251: R1037-R1034.

Trachsel, L., Tobler, L. y Borbély, A.A. (1988): Electroencephalogram analysis of non-rapid eye movement sleep in rat. *Am. J. Physiol. (Regulat. Int. Comp. Physiol.* 24) 255: R27-R37.

Vertes, R.P. (1990): Brainstem mechanisms of slow-wave sleep and REM sleep. En: *Brainstem Mechanisms of Behavior*. W.R. Klemm y R.P. Vertes (Eds.), Wiley & Sons, Inc., New York. pp. 535-583.

Waldhauser, F., Weiszenbacher, G., Tatzer, E., Gisinger, B., Waldhauser, M., Schemper, M. y Frisch, H. (1988): Alterations in nocturnal serum melatonin levels in humans with growth and aging. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 66: 648-652.

Wallace, J.A., Petrusz, P. y Lauder, J.M. (1982): Serotonin immunocytochemistry in the adult and developing rat brain: methodological and pharmacological considerations. *Brain Res. Bull.* 9: 117-129.

Warren, M.A. y Bedi, K.S. (1985): The effects of a lengthy period of undernutrition on food intake and on body and organ growth during rehabilitation. *J. Anat.* 141: 65-75.

Weaker, F.J. y Herbert, D.C. (1984): Pineal gland morphology in rats with experimentally induced protein-caloric malnutrition. *J. Pineal Res.* 1: 121-128.

Webb, W.B. y Agnew, H.W. (1971): Stage 4 sleep: influence of time course variables. *Science* 174: 1354-1356.

Wurtman, R.J., Larin, F., Mostapour, S. y Fernstrom, J.D. (1974): Brain catechol synthesis: control by brain tyrosine concentration. *Science* 185: 183-184.



Zatz, M. (1979): Photoentrainment, pharmacology, and phase shifts of the circadian rhythm in the rat pineal. *Fed. Proc.* 38: 2596-2601.