



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Malnutrición y el ciclo sueño-vigilia en la rata

Malnutrition and the wake-sleep cycle in the rat

León Cintra McGlone, Pilar Durán Hernández

Instituto de Neurobiología UNAM. Campus UNAM, Juriquilla, Querétaro

Cintra-McGlone L, Durán-Hernández P.

Malnutrición y el ciclo sueño-vigilia en la rata.

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 57-62.

RESUMEN

En este artículo se hace una revisión somera de los trabajos elaborados por nuestro grupo de investigación así como por otros grupos a nivel internacional, desde principios de los años ochentas hasta el 2006. Se inicia con el primer estudio de sueño y ritmicidad circádica empleando el modelo de malnutrición con una dieta hipoproteínica de 8% de caseína para continuar con el modelo de 6% de esta proteína elaborado en la Worcester Foundation for Experimental Biology, por el grupo de los doctores Oscar Resnick y Peter Morgane, tratando de simular los Síndromes de Kwashiorkor y Marasmo que se presentan en la población humana. Se utilizaron técnicas de implante mediante cirugía estereotáxica para obtener el electrocorticograma de estructuras corticales, así como de otras como el hipocampo, señales electrofisiológicas que después fueron convertidas a Hertz mediante el algoritmo de la Transformada rápida de Fourier y análisis de correlación inter e intrahemisférica. También se utilizó la herramienta de la privación total de sueño y selectiva de sueño MOR así como una técnica moderada de estrés por restricción de movimiento.

Palabras clave: Malnutrición en la rata, ciclo sueño-vigilia, estados de vigilancia, bandas de frecuencia, ECoG, EMG, privación de sueño, estrés.

Malnutrición y el ciclo sueño-vigilia

Durante los últimos 50 años ha surgido un gran interés por el estudio de los efectos provocados por la desnutrición y posteriormente la malnutrición tanto prenatal como crónica, sobre el desarrollo del sistema nervioso central (SNC) y sus repercusiones funcionales en la rata. Con este propósito se han estudiado diversos modelos de desnutrición y malnutrición que simulen las complejas condiciones en que se presentan en el hombre¹⁻⁶. La desnutrición y malnutrición son fenómenos complejos, ya que en ellos convergen factores sociales, económicos, culturales y políticos cuya solución dista de ser fácil.

Durante los últimos años numerosos estudios han revelado que el SNC es altamente vulnerable a diversas alteraciones del medio ambiente (factores epigenéticos), sobre todo cuando éstas ocurren durante el periodo de crecimiento rápido o periodo crítico⁷. Este concepto ha evolucionado en el SNC y se refiere a los procesos de gliogénesis, neurogénesis, sinaptogénesis y mielinización que ahora se sabe que son periodos muy vulnerables de este sistema.

En años recientes, los efectos de la desnutrición y malnutrición pre y posnatales en la rata han sido motivo de

estudio en diversos laboratorios. Dentro de los parámetros de interés se encuentran los efectos que producen en el ciclo de sueño y vigilia, dado que el sueño y su variación cíclica pueden servir como índice de integridad funcional.

Jacobs y McGinty, en 1971, reportaron que después de una privación total de alimento en ratas de 6 a 11 días en un ciclo de luz-obscuridad de L12/O12, un incremento en la vigilia (VIG) y una reducción del sueño de ondas lentas (SOL) y en el sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR)⁸. Leathwood y cols. (1974) estudiaron los patrones de sueño en ratones blancos desnutridos y no encontraron diferencias significativas en el tiempo consumido en el SOL o el SMOR⁹. Benesová y Dyntarová (1975) usaron dietas hipoproteínicas y normales en ratas (día 0 al 40); y al registrarlas en el estado adulto, encontraron que disminuyó el tiempo total de sueño y se redujeron el SOL y el SMOR¹⁰. Drucker-Colín y cols (1976), emplearon una dieta normal con contenido de 25% de proteína y otra con sólo 8% de proteína y encontraron una reducción en el SMOR, una duración mayor en el ciclo de sueño y mayor frecuencia en el despertar. También estudiaron el patrón de sueño en niños crónicamente desnutridos y encontraron un decremento de 53% en el SMOR en comparación con niños normales de su edad¹¹. Rojas y Posadas (1977) utilizaron dietas deficientes en nutrimentos y dietas normales en la rata durante dos periodos de 25 días iniciados a partir del destete, y mostraron que en los desnutridos hay un incremento en la latencia del SMOR y una disminución en el tiempo total del mismo y del SOL y un incremento de la VIG¹². Borbély (1977) estudió ratas durante 8 días sucesivos con un ciclo de L12/O12, usando 48 horas como control, 80 horas de privación total de alimento y 64 horas de restitución de alimento. Durante la privación de alimento, el SMOR disminuyó en el periodo de obscuridad y aumentó en el periodo de luz, y los episodios totales de sueño disminuyeron en ambos periodos de luz y obscuridad¹³. Salas y cols. (1983) emplearon una privación nutricional y sensorial, separando la mitad de la camada de la madre por 23 días, y efectuaron el registro de los 120 a 150 días de edad y encontraron un incremento en la duración del SMOR durante el día y un incremento del SOL y de la VIG durante la noche¹⁴. Forbes y cols. (1977) usaron dietas normal e hipoproteínica con sólo 8% de proteína en ratas macho Sprague-Dawley en un ciclo 12L/12O durante

3 días, obtuvieron un registro de 24 horas en el último día y encontraron diferencias en la distribución circádica del SMOR y un incremento de éste en la fase obscura¹⁵. Cintra y cols. (1988) utilizaron dietas normal e hipoproteínica con sólo 8% de caseína en ratas Sprague-Dawley macho (que se han utilizado en todos nuestros estudios) malnutridas pre y posnatalmente en un ciclo de 12L/12O durante 4 días y 8 días en obscuridad continua. Las registraron a los 60, 120 y 220 días de edad y encontraron pocos cambios en los estados de vigilancia, además que el SMOR presentó mayores cambios con la edad, seguido del SOL y la VIG; en cuanto al análisis circádico, mostró que los animales malnutridos siguen un patrón de distribución de los estados de vigilancia significativamente distinto al de los normales; los valores promedio de la amplitud del ritmo circádico de los estados de vigilancia fueron mayores en los animales malnutridos, asimismo fueron mayores en los días de fotoperiodo que en los días de obscuridad continua (Fig. 1). La acrofase de estos estados en los malnutridos presentó mayores retrasos en los días de obscuridad continua. La relación α/p siempre fue mayor en los controles que en los malnutridos. El cambio de luz a obscuridad y viceversa de estos estados de vigilancia lo hacen en un tiempo menor los malnutridos que los normales¹⁶.

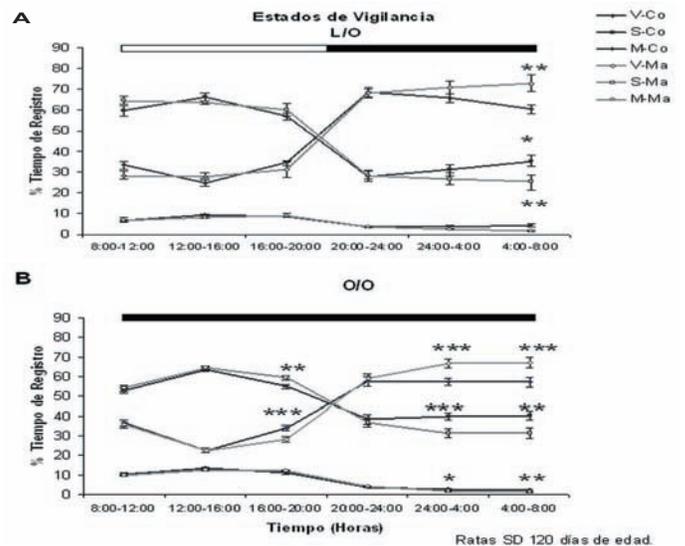


Figura 1. Duración de los estados de vigilancia de ratas de 120 días de edad que fueron sometidas a dieta normal (25%) o baja en proteínas (8%). La parte A corresponde a los valores obtenidos durante el ciclo de 24 horas 12L/12O medidos durante periodos de 4 horas en los dos días control. La parte B muestra los resultados obtenidos durante los 5 días experimentales de obscuridad constante. Cada punto representa la media de 5 animales (+EE). En la gráfica superior, los cambios significativos se observan de las 4 a las 8 horas, mientras que en la gráfica inferior se distribuyen de las 16 a las 8 horas (* $p < 0.05$, ** $p < 0.02$, *** $p < 0.01$, prueba t-student de 2 colas).

Experimentos de privación total de sueño y privación de SMOR.

Durán y cols. (1999), efectuaron un estudio de 5 días consecutivos en ratas macho malnutridas pre y posnatalmente (malnutrición crónica) de 30 días de edad con una dieta de 6% de caseína. El primer día se tomó como registro basal control, en el segundo día se les sometió a una privación total de sueño en un cilindro rotatorio con baja velocidad y se vio la recuperación los tres días siguientes. Encontraron en el primer día que las ratas malnutridas mostraron un incremento significativo del SOL durante las fases de luz y oscuridad del periodo circádico, o sea en las 24 horas de registro en comparación de las ratas normales. El SMOR se incrementó de manera significativa en estas ratas durante las 12 horas de la fase de oscuridad del día basal, pero el registro del electrocorticograma de la VIG se redujo de manera significativa durante ambas fases de luz y oscuridad como resultado de los incrementos de sueño. Después del día de privación de sueño, las ratas malnutridas jóvenes no mostraron ningún rebote del SOL y, contrario a las ratas control, no regresaron a los niveles normales de SOL en los tres días de recuperación. Además, las ratas malnutridas tampoco presentaron un rebote significativo de SMOR, especialmente durante la fase oscura. Estos resultados fueron muy importantes ya que por primera vez nos dimos cuenta de que las ratas malnutridas jóvenes no presentaban estos rebotes funcionales tanto de SOL como de SMOR, y este estudio mostró una alteración importante producida por la malnutrición crónica en control homeostático y circádico de los estados de vigilancia antes y después de la privación total de sueño¹⁷.

Posteriormente efectuamos otro estudio de privación selectiva de sueño MOR en ratas de 30 días de edad¹⁸, en este caso utilizamos tanto la malnutrición prenatal (*in utero*) como la crónica con una dieta hipoproteínica de 6% de caseína con el método tradicional de la plataforma rodeada de agua en un protocolo similar al estudio anterior, o sea que se registraron tres grupos de ratas: macho control, malnutrida prenatal (MP) y malnutrida crónica (MC) durante 5 días consecutivos. El primer día sirvió como registro basal control; en el segundo día se privó a los animales en la plataforma rodeada de agua y posteriormente se vio la recuperación en los tres días siguientes. Aquí empleamos

otra estrategia para lograr lo que se conoce en la literatura como “experimento conflicto”; es decir, los animales estuvieron en un ciclo invertido de 12O/12L desde la gestación hasta la edad de 30 días con la finalidad de que cuando terminaran el día de la privación de SMOR, iniciaran su periodo de recuperación en la fase de actividad u oscura en lugar de la fase de reposo como en el experimento anterior. Otro aspecto importante que consideramos es que debido al tamaño diferente de los animales malnutridos crónicos fue necesario hacer un ajuste en el tamaño de la plataforma empleada, la cual fue más pequeña para asegurar que las condiciones experimentales fueran similares. Además, en este caso efectuamos un análisis circádico de los estados de vigilancia por bloques de 4 horas, como también efectuamos mediante la transformada rápida de Fourier, que es un algoritmo que nos permite transformar nuestra señal del electrocorticograma (ECoG) a Hertz, y con ello trabajamos las tres bandas más representativas del ECoG de la rata: Delta, Theta y Actividad de Ondas Rápidas. Los resultados que se obtuvieron fueron: En el grupo de MP después de la privación de SMOR, los dos primeros días de recuperación, la VIG se incrementó significativamente al igual que el SOL. La malnutrición prenatal alteró las fases de los ritmos de la VIG y el SMOR y redujo la amplitud del ritmo de SOL. El incremento compensatorio del SMOR después de la privación se vio confinado a las primeras 4 horas de la fase de actividad en todos los grupos experimentales y se observó otro rebote de SMOR 24 horas más tarde en los MP. El rebote funcional del SMOR fue significativamente mayor en los MC que en los controles y en los MP, y se presentó solo en las primeras 4 horas después de la privación. Antes y después de la privación de SMOR, la distribución circádica de ambos estados de sueño y las bandas de frecuencia electrocorticales mostraron diferentes fases circádicas a la misma hora del día en los controles MP y MC.

Este experimento reforzó la idea de que la malnutrición hipoproteínica provoca importantes efectos en los mecanismos circádicos y homeostáticos que controlan el sueño. Por otra parte, se puede pensar que la compleja estructura que controla la temporalidad de las ratas malnutridas no permite una sincronización adecuada de algunos parámetros del sueño, en particular del sueño MOR en relación los estímulos ambientales.

Otros estudios

En otro estudio, Cintra y cols. (2001) examinaron las relaciones funcionales entre el hipocampo y la corteza visual¹⁹. Este estudio fue diseñado para poder analizar con otra estrategia utilizando el análisis espectral y los análisis de correlación, cómo interactúan estas estructuras a un nivel intra e interhemisférico en los estados de vigilancia. Para este estudio, también se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley de 30 días de edad y se formaron tres grupos como en el experimento anterior: controles, malnutridos prenatales (MP) y malnutridos crónicos (MC). En este estudio, dado que nos interesaba estudiar la lateralidad del cerebro de los tres grupos que se examinaron, se determinó si eran animales zurdos o diestros mediante el método de Afonso y cols.²⁰. Siete días antes de que cumplieran la edad, se implantaron electrodos de acero inoxidable mediante cirugía estereotáxica en las cortezas occipitales derecha e izquierda y en el CA1 de la formación hipocámpica en su parte más dorsal izquierda y derecha, y se colocaron electrodos en los músculos del cuello para la obtención del electromiograma; asimismo, se conectaron estos electrodos a una terminal común en el cerebelo como referencia y tierra.

Se efectuaron registros a los 30 días de 24 horas y se almacenaron tanto en papel poligráfico como en una computadora PC. Además, se seleccionaron 300 segmentos libres de artefactos durante 2 horas de las 10.00 a las 12.00 hrs. durante la fase de luz de 12 horas que inició a las 8.00 am., para efectuar los análisis de correlación. Como en los experimentos anteriores, se graficaron en una curva los ritmos circádicos de los tres estados de vigilancia: VIG, SOL Y SMOR. Además se efectuó el análisis de correlación, el cual nos indica básicamente la similitud que existe entre dos señales de actividad eléctrica espontánea (ECoG y la actividad hipocámpica) así como las relaciones funcionales entre dos regiones cerebrales.

Normalmente, cuando se hace una gráfica de correlación, la escala que se utiliza va de +1 a -1; si la correlación se acerca a uno en ambas estructuras, esto nos indica que disparan los potenciales de campo de manera muy similar; pero si una región se acerca a 1 y la otra se queda por ejemplo en 0.2, nos indica que disparan en forma diferente y de esta manera se pueden hacer las inferencias

de cómo están funcionando. Durante el análisis visual de las señales a lo largo de las 24 horas de registro, se observó que los MC y MP presentaron una disminución significativa de la VIG y el SMOR en el primer bloque de 4 horas de la fase de oscuridad, mientras que el SOL presentó una disminución significativa únicamente en el bloque intermedio de 4 horas de la fase de luz.

Se efectuó una grafica de la distribución de la correlación (o sea la dispersión) para todas las frecuencias estudiadas (1-32 Hz) en los tres estados de vigilancia (VIG, SOL y SMOR); en el eje de las ordenadas, se graficó el índice de correlación intra o interhemisférica para los grupos control MP y MC, lo cual permitió observar de manera gráfica y condensada los efectos diferenciales de la malnutrición hipoproteínica, prenatal o crónica.

Se pudo observar que el patrón de dispersión que presentan los controles en la correlación intrahemisférica es distinto al de los grupos experimentales. Mientras en los controles existe una dispersión desde 0.2 hasta 0.60 del índice de correlación en los tres estados en ambos hemisferios, en el MP se presentan mayores índices de correlación en el hemisferio izquierdo que en el derecho, en los tres estados de vigilancia. En cambio, el grupo MC presenta la dispersión de los índices de correlación de las frecuencias de 1-32 Hz en el hemisferio izquierdo desde 0 hasta más de 50 %, mientras que el hemisferio derecho presenta índices con valores negativos de todos los estados de vigilancia (Fig.2).

En la correlación interhemisférica en ambos hipocampos del grupo control, la dispersión de los índices de correlación más altos se presentaron en el SOL y el SMOR, mientras que en las cortezas la dispersión es más amplia y siempre en valores positivos. En los MP, se observó en ambos hipocampos que los índices de correlación durante el SOL se concentraron en valores más altos que en la VIG y el SMOR, mientras que las cortezas de los tres estados presentaron una dispersión similar entre sí, con valores positivos. Los hipocampos en el grupo MC presentaron una distribución de los índices de correlación en valores negativos cercanos a -0.50, en tanto que en las cortezas la dispersión de los índices se observa en valores positivos pero bajos, menores a 0.50 en los tres estados de vigilancia.

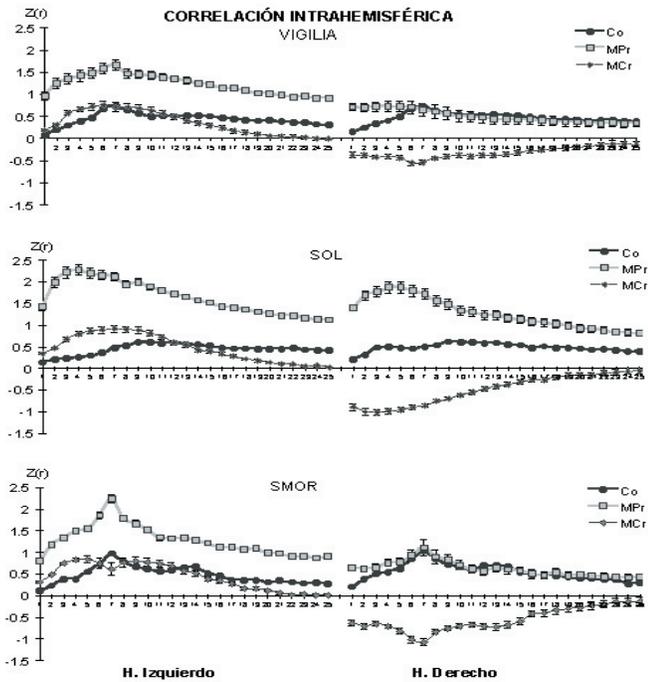


Figura 2. Comparación de la correlación intrahemisférica entre los grupos Co, MPr y MCr, en los tres estados de vigilia y en ambos hemisferios, derecho e izquierdo (ver texto).

En otro estudio, Durán y cols. (2006) estudiaron el efecto de un estrés moderado en el ciclo sueño-vigilia de ratas malnutridas prenatalmente²¹. Se sabe que la malnutrición prenatal y el estrés de tipo físico y psicológico afecta la arquitectura del sueño en la rata adulta; y dado que la malnutrición y el estrés coexisten en las poblaciones humanas, en este estudio se combinaron ambos insultos para estudiar los parámetros del ciclo sueño-vigilia después de un estrés moderado en ratas Sprague-Dawley macho de 90 a 120 días de edad. Como en experimentos anteriores, las ratas fueron implantadas con electrodos de acero inoxidable mediante la técnica estereotáxica, en la corteza prefrontal, en la formación hipocámpica y en los músculos dorsales del cuello, 7 días antes de su registro. El experimento consistió en el registro, el primer día, de 4 horas en el inicio de la fase de oscuridad (de las 8.00 a las 12 horas) que se tomó como el día basal 1. En el segundo día, las ratas fueron sometidas a un estrés moderado colocándolas en un restrictor de movimiento (el cual es un tubo de plexiglás) durante 20 minutos previos a la fase de oscuridad, y después fueron registradas las primeras 4 horas de este periodo de actividad. Posteriormente se analizaron los resultados de los tres estados de vigilia: VIG, SOL y SMOR en bloques de

2 horas. En el día basal, en las primeras 2 horas las ratas MP aumentaron el tiempo de SMOR; y en el segundo bloque de 2 horas, aumento el tiempo de la VIG, y se redujo el de SOL al ser comparados con el grupo control. Después del estrés, la arquitectura del sueño de los grupos no se modificó en las primeras 2 horas en relación con el día basal. En el segundo bloque de 2 horas, ambos grupos mostraron reducciones significativas en el SOL y en el SMOR, pero en particular el grupo de MP no presentó el SMOR, en este tiempo. De estos resultados se puede inferir que los disturbios en el ciclo sueño-vigilia de las poblaciones humanas pueden ser más severos en las poblaciones malnutridas sometidas a experiencias de estrés.

Podemos concluir diciendo que, en cualquier tipo de maniobra experimental, las ratas malnutridas se comportan de una manera diferente que las normales por la alteración homeostática que tienen en su ciclo sueño-vigilia y su ritmicidad circádica.

BIBLIOGRAFIA

1. Sugita, N. Comparative studies on the growth of the cerebral cortex VII. On The influence of starvation at an early age upon the development of the cerebral cortex. Albino rat. *J. Comp. Neurol.*, 29:177-240, 1918.
2. Dobbing, J. Undernutrition and the developing brain: The use of animal models to elucidate the human problem. En: *Chemistry and Brain Development* Paoletti, R. y Davison, A. (Eds.) Plenum Press, New York (1971) pp 399-411.
3. Leuba, G. y Rabinowicz, Th. Long term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition of mouse cerebral cortex. I Cellular densities, cortical volume and total numbers of cells. *Exp. Brain Res.* 37: 283-298, 1979a.
4. Leuba, G. y Rabinowicz, Th. Long term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. II. Evolution of dendritic branchings and spines in the visual region. *Exp. Brain Res.* 37: 299-308, 1979b.
5. Resnick, O., Miller, M. Forbes, W., Hall, R., Kemper, T. Bronzino, J. y Morgane, P. J. Developmental protein malnutrition: Influences on the central

- nervous system of the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 3: 233-246, 1979.
6. Resnick, O. Morgane, P. J. Hasson, R. y Miller, M. Overt and Hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 6: 55-75, 1982.
 7. Dobbing J. y Sands, J. Quantitative growth and development of human brain. *Arc. Dis. Child.* 48: 757-767, 1973.
 8. Jacobs, B. L. and McGinty, D. J. Effects of food deprivation on sleep and wakefulness in the rat. *Exp. Neurol.* 30:212-222, 1971.
 9. Leathood, P. D. Busch, M. S., Berent, C. D. y Valatx, J. L. Paradoxical sleep and avoidance learning of swiss white mice after early undernutrition by raising in large litters. *Experientia* 30: 1428, 1974.
 10. Benesová, O. y Dyntarová, H. The effect of early postnatal malnutrition and pharmacological treatment on sleep time in adult rats. *Act. Nerv. Sup. (Praha)* 17: 63-64, 1975.
 11. Drucker-Colín, R. R., Shkurovich, M., Ugartechea, J. C., Domínguez, J y Rojas-Ramírez, J. A. Sleep patterns in malnutrition. *Proceedings, 16th Annual Meeting, Society for the Psychological study of sleep. Cincinnati, USA, Abstracts.* p 95, 1976.
 12. Rojas Ramírez, J. A. y Posadas, A. A. Ciclo sueño-vigilia en ratas sometidas a periodos de deficiencia nutricional postdestete. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 29: p 237, 1977.
 13. Borbély, A. A. Sleep in the rat during food deprivation and subsequent restitution of food. *Brain Res.* 124: 457-471, 1977.
 14. Salas, M., Ruiz, C., Torrero, C. y Pulido, S. Neonatal food restriction: its effects on the sleep cycles and vigil behavior of adult rats. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 32: 209-215, 1983.
 15. Forbes, W. B., Tracy, C. A., Resnick, O. y Morgane, P. J. Effects of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Exp. Neurol.* 57: 440-450, 1977.
 16. Cintra, L., Diaz-Cintra, S., Galván, A., y Morgane, P. J. Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 36: 3-17, 1988.
 17. Durán, P., Galván, A., Granados, L., Aguilar-Roblero, R. y Cintra, L. Effects of protein malnutrition on the vigilance states and their circadian rhythms in 30day-old rats submitted total sleep deprivation. *J. Nutritional Neurosci.* 2: 127-138, 1999.
 18. Cintra, L., Durán, P., Guevara, M. A., Aguilar, A. y Castañón-Cervantes, O. Pre- and post-natal protein malnutrition alters the effect of rapid eye movements sleep-deprivation by the platform technique upon the electrocorticogram of the circadian sleep-wake cycle and its frequency bands in the rat. *J. Nutritional Neurosci.* 5(2): 91-101, 2002.
 19. Cintra, L., Durán, P. y Guevara, M. A. Relaciones funcionales hipocampo-corteza en la rata malnutrida. En: Javier Velázquez Moctezuma (Ed). *Temas Selectos en Neurociencias II. UAM-PUIS* pp.119-147, 2001.
 20. Afonso, D., Santana, C. y Rodríguez, M. Neonatal lateralization of behavior and brain dopaminergic asymmetry. *Brain Res. Bull.* 32(1): 11-16, 1993.
 21. Durán, P., Galler, J. R. Cintra, L. y Tonkiss, J. Prenatal malnutrition and sleep states in adult rats: Effects of restraint stress. *Physiology and Behavior* 89: 156-163, 2006.