



DEPARTAMENT DE FISIOLOGIA - FARMÀCIA

**DISSOCIACIÓ DELS RITMES CIRCADIARIS I TRACTAMENTS PER AL
SEU ACOBLAMENT EN RATES SOTMESES A CICLES DE LLUM-FOSCOR
DE 22 I 23 HORES**

Montserrat Anglès Pujolràs

2007

V. RESULTATS I DISCUSSIÓ

Estudis anteriors a aquest treball han descrit el fenomen de la dissociació en la variable activitat motora de la rata (Campuzano *et al.*, 1998; de la Iglesia *et al.*, 2004), segons el qual apareixen dos ritmes circadianis simultanis de diferent període quan l'animal és sotmès a cicles LD inferiors a 24 hores.

Amb aquesta tesi hem aprofundit en l'estudi de la fisiologia del sistema circadiani, fixant l'objectiu principal en el fenomen de la dissociació: si pot produir desincronització entre diverses variables fisiològiques, quines influències ambientals la poden induir i si es pot revertir mitjançant tractaments externs.

El primer que ens vam qüestionar va ser si el fenomen de la dissociació es presentava en alguna altra variable diferent de l'activitat motora i, si era així, observar si aquest fenomen es manifestava de la mateixa manera en totes elles. L'estudi comparatiu de diverses variables fisiològiques d'un animal sotmès a dissociació forçada pot donar lloc a dos resultats diferents: d'una banda, que cada variable mostri dos components (DISSOCIACIÓ), i d'altra banda, que dues o més variables s'expressin de manera diferent, havent-hi, en aquest cas, DESINCRONITZACIÓ entre els seus ritmes.

En l'apartat I d'aquesta tesi, hem estudiat el fenomen de la dissociació en la temperatura corporal i en la conducta de beguda de la rata, i hem comparat els resultats obtinguts amb els que s'extreuen a l'estudiar aquest mateix fenomen en la variable activitat motora. També, dins

aquest primer apartat, vam fer un segon estudi en el qual mesuràvem el ritme de melatonina en rates sotmeses a T22.

Vam poder observar que, quan la rata és sotmesa a cicles circadianis inferiors a 24 hores (T22 i T23) la dissociació es presenta en altres variables diferents de l'activitat motora, com la conducta de beguda i la temperatura corporal.

La conducta de beguda és regulada en part per un ritme circadiani i en part per un mecanisme de tipus homeostàtic (Johnson i Johnson, 1997; Bourque *et al.*, 1994). En el nostre experiment s'ha comprovat que el ritme circadiani que presenta aquesta variable està vinculat amb el d'activitat motora, però cal tenir present que els mètodes de detecció d'AM i de B emprats en els experiments d'aquesta tesi estan relacionats, ja que l'animal per beure necessita moure's. Així com per l'activitat motora tenim diferents graus de moviment (l'animal es mou poc o molt), amb la conducta de beguda no succeeix el mateix, sinó que l'animal beu (entre els percentils d'activitat motora 0,5 i 1) i pràcticament no beu (entre els percentils d'activitat motora 0 i 0,5), però sempre s'observa la tendència a augmentar el consum de beguda quan augmenta l'AM.

Un dels principals resultats d'aquest primer apartat és que els dos components típics d'un patró dissociat es presenten de manera diferent en funció de la variable estudiada. Això es posa de manifest quan sota condicions de T22, la relació entre el

%V dels dos components és diferent quan la variable tractada és l'AM, la TEMP o la B. Si s'analitza la relació entre els %V dels dos components per la variable B, els resultats mostren que ambdós components són similars estables. En canvi, la relació $\%V_{LDC}/\%V_{NLDC}$ és inversa quan les variables estudiades són l'AM i la TEMP. Encara que ambdues variables mostrin els dos components típics d'un patró dissociat (LDC i NLDC), el %V expressat pel LDC és major en el cas de l'activitat motora, mentre que per la temperatura, el component que major %V expressa és el NLDC, la qual cosa indicaria que l'activitat motora pot venir majoritàriament regulada per la part VL del NSQ, ja que l'activitat d'aquesta zona està relacionada amb la manifestació del LDC (de la Iglesia *et al.*, 2004), mentre que la temperatura vindria regulada en gran part per la zona DM del NSQ. Cal tenir present que la part VL del NSQ és on arriben les aferències procedents de la retina (Abizaid *et al.*, 2004; Dai *et al.*, 1998), i per tant, té sentit que la variable més relacionada amb aquesta part del NSQ sigui la més reactiva als canvis de llum externs.

Refinetti, l'any 1999, va observar en diverses espècies animals, que la temperatura corporal presentava valors superiors en la fase d'activitat que en la fase de repòs, independentment dels nivells d'activitat. Això suggereix que la regulació circadiària de la temperatura és independent de l'activitat motora de l'animal; és a dir, a part de la dependència

de l'AM hi ha una regulació circadiària independent. L'any 2005, Scheer i col·laboradors van observar una modulació circadiària en el ritme de TEMP, quan estudiaven aquesta variable al llarg d'un cicle circadiari quan l'activitat era zero. Això demostra que la TEMP no depèn totalment de l'AM.

En els animals dissociats, no hi ha només una fase d'activitat i una de repòs, sinó que n'hi ha dues de cada, en funció dels dos components circadianis. Quan els dos components circadianis coincideixen en fase trobem la situació que denominem de doble nit i doble dia, i quan no coincideixen trobem les situacions que denominem nit d'un component - dia de l'altre, i a l'inrevés. Vam estudiar els valors mitjans d'activitat motora, de conducta de beguda i de temperatura en les 4 situacions. Els valors més alts sempre van correspondre a la doble nit i els més baixos al doble dia, però les dues situacions intermitges (S3 i S4), van ser diferents en funció del grup. Així, la tendència observada en els animals del grup T22 va ser la de posseir un valor de S4 superior al de S3, mentre que els animals sotmesos a cicles de 23 hores, tendien a mostrar un valor superior per la S3 que per la S4, en les tres variables estudiades. L'anàlisi estadística va mostrar diferències significatives únicament en el grup T22 i per la variable TEMP, entre S3 i S4, essent S4 superior a S3, la qual cosa indica que els animals d'aquest grup presenten una menor sincronització al cicle LD que els animals de

T23, i que aquesta sincronització no és igual per les tres variables.

Per tal de discernir si alguna variable depenia d'una altra, per exemple, si l'augment de temperatura corporal o d'apetència per la beguda és només conseqüència d'un augment d'activitat motora o bé presenta una regulació circadiària independent, es va estudiar les correlacions entre TEMP i AM, i entre B i AM, en les 4 situacions que trobem en T22, en relació al percentil d'AM. La gràfica on es representa la TEMP en funció de l'AM presenta 4 línies paral·leles i diferents; això significa que la regulació circadiària de la TEMP és independent de l'AM, és a dir, per cada percentil d'AM, la TEMP presenta un nivell diferent en cada situació. A més, a T22, el %V_{NLDC} té un valor major per la TEMP i la S4 és superior que la S3. Tot això suggereix l'existència de desincronització entre TEMP i AM, la qual cosa es pot interpretar com un desacoblament entre el conjunt d'oscil·ladors que formen el NSQ. Si representem la relació entre B i AM trobem que entre ambdues no hi ha pràcticament diferències en les 4 situacions esmentades. Aquestes dues variables estan molt relacionades ja que la B incrementa quan augmenta l'AM. Ens vam plantejar, també, estudiar la relació entre TEMP i B, i els resultats obtinguts van ser molt semblants als obtinguts en la relació anterior, amb la diferència que, en aquest cas no trobem valors baixos de B. Això és diferent de l'AM,

en la qual els animals presenten diferents graus de moviment.

Cal tenir en compte, però, que per a l'estudi de la dissociació d'un ritme, les tres variables analitzades en aquest treball són vàlides, ja que totes elles mostren dos ritmes quantificables, però si el que volem estudiar és el fenomen de la desincronització de ritmes, necessitem analitzar AM i TEMP simultàniament. De fet, Wever, l'any 1979 ja havia publicat la desincronització entre les variables AM i TEMP, produïda en humans quan se'ls aplica un protocol d'aïllament temporal, en el seu llibre "*The circadian system of man. Results of experiments under temporal isolation*". Per altra banda, Moore-Ede *et al.*, en el llibre "*The clocks that time us*" (1982), publica l'existència de dos marcapassos (Kronauer *et al.*, 1982), cada un dels quals condueix els ritmes de dues variables diferents. Per un costat, el son REM, la temperatura corporal, el cortisol i l'excreció de potassi en orina i per l'altre, el son d'ones lentes, la temperatura superficial, l'hormona de creixement i l'excreció de calci en orina. Això concorda amb els resultats obtinguts en els treballs realitzats en col·laboració amb la Universitat de Washington, on veiem que el son REM i la temperatura corporal majoritàriament segueixen el NLDC, mentre que el SWS i l'AM, presenten el LDC més estable. Pensem que l'existència de dos marcapassos pot ser deguda a dos grups d'oscil·ladors dins el mateix NSQ i, en aquest cas, aquests dos grups de variables vindrien dirigides per dos

grups d'oscil·ladors diferents. Entenem que la desincronització forçada a T22 pot ser un bon model experimental per a l'estudi de la desincronització de ritmes en humans.

De l'estudi del ritme de melatonina en T22 es conclou que aquesta hormona, el dia en què els dos components coincideixen en fase, mostra un ritme molt semblant al que tenen els animals sincronitzats a T24: presenta un pic nocturn i inhibició per la llum. En canvi, quan els dos components estan separats, s'observa un desplaçament (avançament) d'aquest pic. És a dir, mai apareix MEL durant la llum, però varia el moment del pic en funció de si els dos components estan junts o separats.

Si bé amb la tècnica emprada hem pogut determinar el ritme de MEL, creiem que caldria utilitzar un mètode que permetés la detecció contínua, ja que la relació de fases varia constantment (dia a dia). No hem pogut detectar dos pics de melatonina, el qual significa que no hem trobat dissociació en el ritme d'aquesta variable. Ja que no podem demostrar que el ritme de melatonina segueix majoritàriament un component, suggerim la possibilitat que el ritme d'aquesta hormona depengui d'ambdues parts del NSQ.

Cal tenir en compte que aquest és un experiment que presenta dificultats tècniques: seleccionar els animals que presenten els dos components ben marcats, mantenir animals canulats durant 10 dies, la pèrdua de ritmicitat observada en alguns animals després de la primera extracció de

sang i treure 14 mostres de sang a cada animal, ens va obligar a partir d'un nombre elevat d'animals.

Del conjunt d'experiments que componen l'apartat I, podem concloure que sota cicles de 22 hores, la rata presenta dissociació en els ritmes d'AM, de TEMP i de B i també desincronització entre els ritmes de B i de TEMP, i entre els ritmes d'AM i de TEMP. La regulació de la TEMP és en part independent de l'AM. No trobem, en canvi, dos pics de MEL en rates a T22.

En l'apartat II d'aquesta tesi s'ha contemplat, també, la influència de les condicions ambientals en la inducció de la dissociació; en particular, l'efecte del període durant els primers dies de vida.

Sempre s'ha observat el fenomen de la dissociació del sistema circadiari quan els animals nascuts en T24 (condicions naturals) són forçats a viure sota cicles de 22 o 23 hores (condicions artificials). Degut a què les condicions ambientals de les primeres etapes de la vida poden afectar el desenvolupament i la manifestació dels ritmes circadianis (Cambras *et al.*, 1997; Canal-Corretger *et al.*, 2000; Canal-Corretger *et al.*, 2001), vam pensar que el fet de mantenir els animals des del naixement i durant tota l'etapa de l'alletament en les mateixes condicions anòmales que indueixen dissociació podia alterar la manifestació de la dissociació del seus ritmes circadianis quan aquests animals es fan adults.

Experiments publicats anteriorment per Campuzano *et al.* (1998), en els quals s'estudiava la dissociació en animals nascuts en T24 i després transferits a cicles de 22h (T24_L-T22) o de 23h (T24_L-T23), van mostrar que els animals del grup T24_L-T22 posseïen un NLDC més marcat que l'altre grup, mentre que pel T24_L-T23, el component més potent era el LDC. És a dir, el grup T24_L-T22 presentava una dissociació més "forta", que nosaltres interpretem com a un major desacoblament entre les dues parts del NSQ, mentre que el grup T24_L-T23 presentava més encarrilament. La mateixa anàlisi realitzada per la TEMP il·lustra la desincronització entre aquesta variable i l'AM, ja observada en l'experiment 1. En el nostre estudi, a banda dels dos grups esmentats, hem afegit dos grups més: els nascuts a T22 i que continuen vivint en T22 (T22_L-T22) i els nascuts en T23 i que continuen vivint en T23 una vegada deslletats (T23_L-T23). Hem vist que l'exposició a cicles T durant l'al·letament modifica en els animals l'expressió dels components presents en la dissociació. Ja que la dissociació (en la qual trobem un NLDC més manifest) és un fenomen més extès en els animals sotmesos a T22, és fàcil pensar que el fet de sotmetre els animals a cicles T durant l'al·letament pugui tenir més efecte en el grup de T22. El grup T23_L-T23 presenta un major %V_{LDC} que el grup T24_L-T23, en ambdues variables, el que es pot interpretar com una major adaptació al cicle extern de LD. Comparant els grups T24_L-T22

i T22_L-T22, hem pogut observar que el segon presenta un període del NLDC similar a l'observat en els animals sotmesos a T23, és a dir, més curt que el grup T24_L-T22, la qual cosa pot indicar que, comparant-lo amb T24_L-T22, s'han produït canvis en el grau d'acoblament entre les dues parts del NSQ. D'aquí es pot deduir que les rates del grup T24_L-T22 presenten un major desacoblament entre les dues parts del NSQ, cosa que es tradueix en la desincronització entre dos ritmes diferents (AM i TEMP). El grup T22_L-T22 podríem dir que està en una situació de desacoblament feble, la qual cosa fa que hi hagi dissociació de cada un dels ritmes en dos components, però no hi arribi a haver desincronització entre dos ritmes diferents. Al calcular les mitjanes d'AM i TEMP per cada grup, variable i situació, s'observa que la situació de doble nit sempre presenta els valors més alts, la situació de doble dia, els valors més baixos, i les S3 i S4 els valors intermitjos, en tots els grups i per totes les variables. En els animals de T22, només s'observen diferències estadísticament significatives entre grups en les S3 i S4 per la variable TEMP: els nascuts a T22 (T22_L-T22) mostren un valor més alt per la S3 (nit LDC – dia NLDC), mentre que per la S4 (dia LDC – nit NLDC) són els animals nascuts en T24 (T24_L-T22) els que en mostren un valor més alt. Això suggereix que els nascuts a T22 presenten un major encarrilament al cicle LD que els nascuts a T24. La mateixa anàlisi feta amb la variable AM mostra la mateixa tendència. Els animals de T23

únicament mostren diferències significatives en la S1 (doble nit) per l'AM. El grup de nascuts a T23 mostra un valor més alt per aquesta situació que el grup de nascuts a T24.

En definitiva, el temps que un animal està sota un cicle T determinat afecta el funcionament del cicle circadiari, però cal observar que no és el mateix si aquest temps és durant l'alletament o bé posterior a aquesta etapa de la vida; en el primer cas, el temps viscut en aquestes condicions determinades afavoreix la sincronització al cicle extern, mentre que en el segon cas, el que es produeix és una major manifestació del NLDC. Tot això ens porta a concloure que el període d'alletament és crític per al desenvolupament de la funcionalitat del sistema circadiari, tal i com s'havia proposat anteriorment (Canal-Corretger *et al.*, 2000; Canal-Corretger *et al.*, 2001), ja que l'exposició dels animals a cicles de LD de 22h durant l'alletament impedeix la desincronització dels ritmes d'AM i de TEMP quan les rates són adultes.

La desincronització de ritmes provoca trastorns que es tradueixen en malestar físic en les persones que ho pateixen. Per tal d'entendre el mecanisme pel qual es produeix aquest fenomen, vam iniciar una sèrie d'estudis encaminats a trobar algun tractament que fos capaç d'acoblar els ritmes circadianis quan es presenta dissociació. Per fer-ho, vam provar diferents tractaments, els resultats dels quals es mostren en l'apartat III d'aquest treball, i

que són: l'administració d'alimentació restringida, de melatonina, de diazepam i de xocs electroconvulsius.

Pel que fa a l'administració d'alimentació restringida, els resultats obtinguts mostren que, a banda dels dos components típics de la dissociació (LDC i NLDC), quan sotmetem els animals a alimentació restringida, es genera un tercer component, el FDC. El període del NLDC no varia amb l'administració d'alimentació restringida, però l'estabilitat i l'amplitud del LDC i del NLDC es veuen disminuïdes quan s'aplica un règim de restricció d'aliment. Les rates sotmeses a T23, estan més encarrilades al cicle LD; en aquest grup, l'aplicació d'alimentació restringida provoca la desaparició total del NLDC i l'aparició del FDC. Tot això ens suggereix, per una banda, la idea d'una redistribució de l'activitat del conjunt d'oscil·ladors, i per l'altra, que l'alimentació restringida té més efecte sobre un sistema circadiari sincronitzat que sobre un de dissociat, ja que quan és aplicada sobre aquest darrer es genera un patró rítmic més complex enlloc de revertir la dissociació.

Pel que fa al sexe dels animals, s'han descrit diferències morfològiques en el NSQ de mascles i femelles (Güldner, 1983). Els nostres resultats van en la mateixa direcció, ja que indiquen diferències entre sexes, però únicament pels dos components generats pel NSQ; en el cas del FDC, que és un ritme generat pels oscil·ladors perifèrics, no s'observen diferències entre sexes.

Quant al nivell mitjà d'AM, no es van observar diferències entre grups, sinó una distribució diferent del nivell d'aquesta variable en funció del nombre de components existents en una etapa de l'experiment. Els animals també van presentar un component anticipant atribuïble a l'acció dels oscil·ladors perifèrics situats fora del NSQ. Així, quan els *zeitgebers* llum i aliment entren en conflicte, l'organisme, lluny d'acoblar-se en un ritme únic, acaba seguint diversos ritmes simultàniament, la qual cosa ens fa pensar en la flexibilitat del sistema.

En un altre experiment vam observar l'efecte de la melatonina i el diazepam, administrats en aigua de beguda, sobre el sistema circadiari de rates sotmeses a cicles de 22 hores. Se sap que tant la melatonina com el diazepam actuen sobre el NSQ (Cassone *et al.*, 1986; Ralph i Menaker, 1986), però no està encara clar si aquestes dues substàncies actuen sobre una sola part del NSQ o sobre les dues i si alguna d'elles pot tenir efecte acoblador sobre aquest sistema. Per tal d'observar l'efecte de la melatonina, es va administrar aquesta substància a un grup de rates sanes i a un grup de rates gangliectomitzades, per tal d'eliminar, en els animals, el ritme circadiari endogen de melatonina. El mateix es va fer amb l'administració de diazepam, però en aquest cas es va introduir un grup nou: el grup d'animals pinealectomitzats, per descartar la possible interacció entre el diazepam i la glàndula pineal. Cal

puntualitzar que cap de les dues intervencions quirúrgiques dutes a terme en aquests animals dissociats, altera el període del NLDC.

Estudis fets per Slotten *et al.* (1999) van demostrar que l'administració de melatonina en aigua de beguda era una via eficient per encarrillar ritmes en curs lliure en rates. Si tenim en compte aquests estudis, juntament amb l'observat anteriorment de què el ritme de conducta de beguda és molt similar al ritme d'activitat motora, podem considerar la possibilitat que un mateix animal reforci un component o l'altre d'acord amb el seu propi ritme de beguda. Els resultats obtinguts mostren que el tractament amb aquesta substància afecta el període del component en curs lliure, escurçant-lo, el que ens fa pensar que la melatonina exerceix un efecte directe sobre el NSQ. Aquest escurçament del període del NLDC el faria proper al període del cicle extern de LD, promovent així l'acoblament dels oscil·ladors d'ambdues parts del NSQ. Ja que aquest efecte s'observa tant en rates control com en rates pinealectomitzades, fa pensar que no és necessària la melatonina endògena per a l'obtenció d'aquests resultats. A més, l'administració de melatonina augmenta el %V_{LDC} en detriment del %V_{NLDC}. Això suggereix un augment de l'encarrilament del ritme d'activitat motora envers el cicle extern. L'administració de diazepam en aigua de beguda també potencia el component encarrilat per la llum, afavorint l'encarrilament al cicle LD, però sense

modificar el període del NLDC. Això ens fa pensar que la MEL i el DZP actuen de manera diferent sobre les dues parts del NSQ encara que ambdós, en animals a T22, afavoreixin l'encarrilament.

Ja que d'una banda, la depressió és una malaltia que sovint cursa amb alteració de ritmes i de l'altra, les alteracions de ritmes poden induir trastorns de tipus psicològic (Wirz-Justice, 2006), ens vam preguntar si la teràpia electroconvulsiva, que és un tractament potent que s'utilitza actualment en el guariment de la depressió, actuava sobre el sistema circadiari. Com que l'administració de XECs és un bon model experimental de la TEC, vam dissenyar un experiment encaminat a provar si el XEC era capaç d'acoblar un sistema circadiari dissociat, però com que l'efecte del XEC sobre els ritmes no estava descrit, vam creure convenient, primer de tot, examinar l'efecte del xoc electroconvulsiu sobre els ritmes d'AM i de TEMP de la rata en dues situacions diferents: vam avaluar l'efecte agut i l'efecte crònic sobre rates en curs lliure. Aquests dos estudis pretenien esbrinar si els XECs afecten el funcionament del sistema circadiari sa, per passar després a analitzar l'efecte en un sistema dissociat.

L'efecte agut del XEC (un xoc electroconvulsiu aplicat a cada CT) pràcticament no afecta ni el període ni la fase de les dues variables analitzades. Quan el XEC és aplicat de forma crònica sobre un sistema en curs lliure modifica els nivells d'AM, no modifica els de TEMP, però

sí que afecta la manifestació dels ritmes d'ambdues variables, sense afectar el període o la fase dels ritmes en curs lliure. Cal destacar que, durant els dies de l'administració, es pot observar una notable pèrdua de la ritmicitat circadiària, però quan es deixa d'aplicar l'estímul, l'animal restableix totalment la ritmicitat d'ambdues variables, mantenint igual període i fase.

Un cop avaluat l'efecte del XEC sobre el sistema circadiari sa, es va plantejar l'estudi d'aquest tractament sobre el sistema circadiari dissociat. D'aquesta manera, administrant diàriament una sèrie de xocs electroconvulsius (administració crònica) sobre un sistema circadiari desincronitzat, s'observa una major desorganització del sistema, probablement produïda pel major nivell d'estrès que presenten les rates sotmeses a cicles de LD anòmals. A més, a banda dels dos ritmes característics de la dissociació, durant els dies que dura l'administració de XECs, apareix un tercer ritme induït per l'administració de la tanda de xocs electroconvulsius. Els resultats obtinguts en els tres experiments conclouen que els ritmes manifestos d'ambdues variables són modificats per l'administració diària de xocs electroconvulsius, però el marcapassos circadiari no en resulta afectat. Per tant, considerem que el mecanisme antidepressiu de la TEC no és a través del sistema circadiari.

En resum, entenem el sistema circadiari com un conjunt d'oscil·ladors situats a nivell central, formant el NSQ, i a nivell perifèric,

localitzats a diferents òrgans. El grup d'oscil·ladors que formen el NSQ es pot dividir en dues àrees: la part VL i la part DM. La primera és la que rep informació lumínica provinent de la retina i a ella s'associa l'activitat del LDC; la part VL també envia informació a la part DM del NSQ, que és l'àrea que principalment "dirigeix" el NLDC.

Un animal que visqui sotmès a cicles circadianis inferiors a 24h presenta un ritme d'activitat motora, de conducta de beguda i de temperatura corporal dissociat, és a dir, cada una d'aquestes variables presenta dues periodicitats diferents: una, que segueix el cicle extern, i que anomenem LDC i una altre que segueix el període endogen i que anomenem NLDC. Aquesta dissociació de ritmes es pot interpretar com un desacoblament entre les dues àrees del NSQ. Per això, sota aquestes condicions, si en un mateix animal analitzem els ritmes d'AM i de TEMP, veurem que presenta desincronització de ritmes, de tal manera que la variable AM segueix majoritàriament el LDC, mentre que la TEMP, el NLDC. Cal tenir en compte però, que si un animal neix i és mantingut en aquestes condicions anòmales durant el període d'al·letament, quan és adult, tot i que els seus ritmes presenten dissociació, no mostren desincronització, la qual cosa suggereix que aquests animals presenten un menor grau de desacoblament entre els oscil·ladors d'ambdues parts del NSQ. Per això creiem que el fet de viure en aquestes condicions

durant les primeres etapes de la vida evitaria la desincronització de ritmes en l'etapa adulta. És evident que això no succeirà mai perquè en la natura, el cicle LD és proper a 24 hores, però ens dóna idea de la plasticitat del sistema circadiani en les primeres etapes de la vida.

En aquest treball s'han assajat, també, diversos tractaments que podrien conduir a un acoblament del NSQ dissociat. Un d'ells és l'alimentació restringida, que es comporta com un "zeitgeber feble" sobre el sistema circadiani dissociat. Un altre és l'administració de XECs, que únicament modifica els ritmes manifestos d'activitat motora i de temperatura, sense afectar l'acoblament dels ritmes.

De tots ells, doncs, únicament la melatonina i el diazepam, creiem que tenen un efecte sobre el funcionament del NSQ.

Així doncs, l'estructura del sistema circadiani permet la presència de diversos ritmes circadianis simultàniament en funció de les condicions ambientals cícliques. En una mateixa variable, la manifestació de 2 o 3 components indica la flexibilitat necessària, del sistema circadiani, per adaptar-se a diversos estímuls, la qual cosa es pot obtenir acoblant o desacoblant els diferents oscil·ladors que formen l'estructura global del sistema circadiani. La melatonina i el diazepam poden actuar afavorint l'acoblament entre els oscil·ladors de les dues parts dels NSQ.

CONCLUSIONS

1. Quan la rata es sotmet a cicles de llum-fosc de 22 hores presenta dos components circadianis simultanis, en les variables activitat motora, temperatura i conducta de beguda, essent, la manifestació dels dos components, diferent en funció de la variable considerada.
 - ~ En l'activitat motora, és més manifest el component dependent de la llum.
 - ~ En la temperatura, és més manifest el component no dependent de la llum.

2. Sota cicles de llum-fosc de 22 hores, el ritme de temperatura corporal es desincronitza del ritme d'activitat motora.
 - ~ El model animal desenvolupat en aquesta tesi ha demostrat ser un bon model experimental per a l'estudi de la desincronització en humans.

3. Sota cicles de llum-fosc de 22 hores, el ritme de temperatura presenta una doble regulació circadiana independent dels nivells d'activitat motora.
 - ~ Es poden establir 4 possibles nivells de temperatura per a un determinat nivell d'activitat, en funció de les 4 situacions generades per la interacció entre el LDC i el NLDC.

4. L'exposició a cicles de llum-fosc de 22 hores durant el naixement i l'al·letament inhibeix la desincronització entre els ritmes d'activitat motora i temperatura de les rates.

5. L'alimentació restringida administrada cada 24 hores a rates amb el sistema circadiani dissociat dona lloc a un patró d'activitat motora complex format per 3 components circadianis.

6. L'alimentació restringida administrada cada 24 hores a rates amb el sistema circadiani dissociat no modifica el període del component no dependent de la llum.

7. L'alimentació restringida administrada cada 24 hores a rates amb el sistema circadiani dissociat disminueix l'estabilitat i l'amplitud d'ambdós components, essent aquest efecte més pronunciat sota T23 on el component no dependent de la llum pràcticament desapareix.
 - ~ Això indica que l'alimentació restringida té més influència sobre un sistema sincronitzat que sobre un sistema dissociat.

8. Quan la rata presenta diversos ritmes circadianis simultàniament, la qual cosa s'observa tant en la dissociació com quan l'alimentació és administrada de forma restringida cada 24 hores, l'activitat motora es distribueix entre els components presents en resposta als estímuls externs, però el nivell mitjà es manté constant.
9. L'expressió dels components dirigits pels NSQ (LDC i NLDC) és diferent en funció del sexe dels animals, no essent-ho l'expressió dels components dirigits pels oscil·ladors perifèrics.
10. L'FAA és independent del cicle T i del nombre de components que presenti el ritme d'activitat motora.
11. L'administració de melatonina i diazepam en aigua de beguda a rates amb el sistema circadiari dissociat potencia el LDC en detriment del NLDC afavorint l'encarrilament al cicle de llum-fosc. Aquest efecte és més gran en animals tractats amb diazepam.
12. La melatonina administrada en aigua de beguda en rates mantingudes sota cicles de llum-fosc de 22 hores escurça el període del component no dependent de la llum.
13. Tant la pinealectomia com l'extirpació dels ganglis cervicals superiors a animals dissociats incrementa la manifestació del LDC (%A), però només quan les rates són tractades amb melatonina o diazepam.
14. Ni la pinealectomia ni l'extirpació dels ganglis cervicals superiors en animals dissociats altera el període del NLDC .
15. L'administració de xocs electroconvulsius modifica els ritmes manifestos d'activitat motora i de temperatura sense afectar el marcapassos circadiari. Concretament:
 - L'administració d'un xoc electroconvulsiu no modifica ni la fase ni el període dels ritmes circadianis d'activitat motora i de temperatura.
 - L'administració de xocs electroconvulsius en rates en curs lliure disminueix el contingut de potència de l'harmònic circadiari dels ritmes d'activitat motora i temperatura però sense modificar ni el període ni la fase dels ritmes.
 - L'administració diària de xocs electroconvulsius en rates en curs lliure incrementa el valor mitjà de l'activitat motora, però no el de la temperatura.

- ~ L'administració diària de xocs electroconvulsius en rates amb el sistema circadiari dissociat no modifica el període del NLDC.
- ~ L'administració diària de xocs electroconvulsius en rates amb el sistema circadiari dissociat incrementa el valor mitjà de l'activitat motora i el de la temperatura.

BIBLIOGRAFIA

- Abe H, Honma S, Namihira M, Masubuchi S, Honma K. 2001a. Behavioural rhythm splitting in the CS mouse is related to clock gene expression outside the suprachiasmatic nucleus. *Eur J Neurosci.* 14:1121-1128.
- Abe H, Honma S, Namihira M, Masubuchi S, Ikeda M, Ebihara S, Honma K. 2001b. Clock gene expression in the suprachiasmatic nucleus and other areas of the brain during rhythm splitting in CS mice. *Mol Brain Res.* 87:92-99.
- Abe H, Honma S, Ohtsu H, Honma K. 2004. Circadian rhythms in behavior and clock gene expressions in the brain of mice lacking histidine decarboxylase. *Brain Res Mol Brain Res.* 124:178-187.
- Abizaid A, Horvath B, Keefe DL, Leranth C, Horvath TL. 2004. Direct visual and circadian pathways target neuroendocrine cells in primates. *Eur J Neurosci.* 20:2767-2776.
- Abrahamson EE, Moore RY. 2001. Suprachiasmatic nucleus in the mouse: retinal innervation, intrinsic organization and efferent projections. *Brain Res.* 916:172-191.
- Aghajanian GK, Bloom FE, Sheard MH. 1969. Electron microscopy of degeneration within the serotonin pathway of rat brain. *Brain Res.* 13(2):266-273.
- Albrecht U, Zheng B, Larkin D, Sun Z, Lee CC. 2001. mPer1 and mPer2 are essential for normal resetting of the circadian clock. *J Biol Rhythms.* 16:100-104.
- Albus H, Vansteensel MJ, Michel S, Block GD, Meijer JH. 2005. A GABAergic mechanism is necessary for coupling dissociable ventral and dorsal regional oscillators within the circadian clock. *Curr Biol.* 15:886-893.
- Ángeles-Castellanos M, Aguilar-Robledo R, Escobar C. 2004. c-Fos expression in hypothalamic nuclei of food-entrained rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 286:158-165.
- Arendt J. 1988. Melatonin. *Clin Endocrinol. (Oxf).* 29:205-229.
- Arendt J. 2005. Melatonin: Characteristics, concerns and prospects. *J Biol Rhythms.* 20:291-303.
- Arendt J, Skene DJ. 2005. Melatonin as a chronobiotic. *Sleep Med Rev.* 9:25-39.

Arendt J, Skene DJ, Middleton B, Lockley SW, Deacon S. 1997. Efficacy of melatonin treatment in jet lag, shift work, and blindness. *J Biol Rhythms*. 12:604-617.

Aschoff J. 1978. Circadian rhythm within and outside their ranges of entrainment. In: Assemacher I, Farner D, eds. *Environmental endocrinology*. Berlin: Springer-Verlag. 172-181.

Aschoff J, Pohl H. 1978. Phase relations between a circadian rhythm and its zeitgeber within the range of entrainment. *Naturwissenschaften*. 65:80-84.

Balsalobre A. 2002. Clock genes in mammalian peripheral tissues. *Cell Tissue Res*. 309:193-199.

Balsalobre A, Brown SA, Marcacci L, Tronche F, Kellendonk C, Reichardt HM, Schutz G, Schibler U. 2000. Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science*. 289(5488):2344-2347.

Balsalobre A, Damiola F, Schibler U. 1998. A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell*. 93:929-937.

Bartness TJ, Song CK, Demas GE. 2001. SCN efferents to peripheral tissues: implications for biological rhythms. *J Biol Rhythms*. 16:196-204.

Blier P, de Montigny C. 1998. Possible serotonergic mechanisms underlying the antidepressant and anti-obsessive-compulsive disorder responses. *Biol Psychiatry*. 44:313-323.

Blier P, Pineyro G, el Mansari M, Bergeron R, de Montigny C. 1998. Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. *Ann N Y Acad Sci*. 861:204-216.

Bojkowski CJ, Aldous ME, English J, Franey C, Poulton AL, Skene DJ, Arendt J. 1987. Suppression of nocturnal plasma melatonin and 6-sulphatoxymelatonin by bright and dim light in man. *Horm Metab Res*. 19:437-440.

Bojkowski CJ, Arendt J. 1988. Annual changes in 6-sulphatoxymelatonin excretion in man. *Acta Endocrinol. (Copenh)*. 117:470-476.

- Boulos Z, Rusak B. 1982. Phase-response curves and the dual-oscillator model of the circadian pacemaker. In: Aschoff J, Daan S, Gross G, eds. *Vertebrate circadian rhythms: Structure and physiology*. Heidelberg: Springer-Verlag:215-223.
- Bourque CW, Oliet SH, Richard D. 1994. Osmoreceptors, osmoreception, and osmoregulation. *Front Neuroendocrinol.* 15:231-274.
- Brown RE, Stevens DR, Haas HL. 2001. The physiology of brain histamine. *Prog Neurobiol.* 63:637-672.
- Brownstein M, Axelrod J. 1974. Pineal gland: 24-hour rhythm in norepinephrine turnover. *Science.* 184(133):163-165.
- Brück K. 1993. Equilibrio térmico y regulación de la temperatura corporal. En: Schmidt RF, Thours G. *Fisiología humana*. 24ed. Interamericana McGraw-Hill. 25:683-705.
- Buijs RM, Kalsbeek A. 2001. Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat Rev Neurosci.* 2:521-526.
- Cambras T. 2006. Propiedades fundamentales de los ritmos biológicos. En: Madrid JA, Rol de Lama MA (eds). *Cronobiología básica y clínica*. Editec@red. Madrid. 151-189.
- Cambras T, Canal MM, Torres A, Vilaplana J, Díez-Noguera A. 1997. Manifestation of circadian rhythm under constant light depends on lighting condition during lactation. *Am J Physiol.* 276:1039-1046.
- Cambras T, Vilaplana J, Díez-Noguera A. 1993. Effects of long-term restricted feeding on motor activity rhythm in the rat. *Am J Physiol.* 265:467-473.
- Campuzano A, Vilaplana J, Cambras T, Díez-Noguera A. 1998. Dissociation of the rat motor activity rhythm under T cycles shorter than 24 hours. *Physiol Behav.* 63(2):171-176.
- Canal-Corretger MM, Cambras T, Vilaplana J, Díez-Noguera A. 2000. Bright light during lactation alters the functioning of the circadian system of adult rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 278:201-208.

- Canal-Corretger MM, Vilaplana J, Cambras T, Díez-Noguera A. 2001. Functioning of the rat circadian system is modified by light applied in critical postnatal days. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 280:1023-1030.
- Card JP, Brecha N, Karten HJ, Moore RY. 1981. Immunocytochemical localization of vasoactive intestinal polypeptide-containing cells and processes in the suprachiasmatic nucleus of the rat: light and electron microscopic analysis. *J Neurosci.* 1(11):1289-1303.
- Card JP, Fitzpatrick-McElligott S, Gozes I, Baldino F. Jr. 1988. Localization of vasopressin-, vasoactive intestinal polypeptide-, peptide histidine isoleucine- and somatostatin-mRNA in rat suprachiasmatic nucleus. *Cell Tissue Res.* 252(2):307-315.
- Carlsson A, Svennerhold L, Winblad B. 1980. Seasonal and circadian monoamine variations in human brains examined post mortem. *Acta Psychiatr Scand.* 61(280):75-85.
- Caruso CC, Lusk SL, Gillespie BW. 2004. Relationship of work schedules to gastrointestinal diagnoses, symptoms, and medication use in auto factory workers. *Am J Ind Med.* 46(6):586-598.
- Cassone VM, Chesworth MJ, Armstrong SM. 1986. Dose-dependent entrainment of rat circadian rhythms by daily injection of melatonin. *J Biol Rhythms.* 1:219-229.
- Cassone VM, Warren WS, Brooks DS, Lu J. 1993. Melatonin, the pineal gland, and circadian rhythms. *J Biol Rhythms.* 8:73-81.
- Castillo MR, Hochstetler KJ, Tavernier RJ, Greene DM, Bult-Ito A. 2004. Entrainment of the master circadian clock by scheduled feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 287(3):551-555.
- Chiesa JJ, Anglès-Pujolràs M, Díez-Noguera A, Cambras T. 2005. Activity rhythm of golden hamster (*Mesocricetus auratus*) can be entrained to a 19-h light-dark cycle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 289:998-1005.
- Childs G, Redfern PH. 1981. A circadian rhythm in passive avoidance behaviour: the effect of phase shift and the benzodiazepines. *Neuropharmacology.* 20:1365-1366.

- Clarke JD, Coleman GJ. 1986. Persistent meal-associated rhythms in SCN-lesioned rats. *Physiol Behav.* 36:105-113.
- Claustrat B, Brun J, Chazot G. 2005. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev.* 9:11-24.
- Claustrat B, Brun J, Garry P, Roussel B, Sassolas G. 1986. A once-repeated study of nocturnal plasma melatonin patterns and sleep recordings in six normal young men. *J Pineal Res.* 3(4):301-310.
- Coleman GJ, Harper S, Clarke JD, Armstrong S. 1982. Evidence for a separate meal-associated oscillator in the rat. *Physiol Behav.* 29(1):107-115.
- Colwell CS, Menaker M. 1996. Regulation of circadian rhythms by excitatory amino acids. In: Brann DW, Mahesh VB, eds. *Excitatory amino acids: Their role in neuroendocrine function.* New York: CRC Press. 223-252.
- Cote NK, Harrington ME. 1993. Histamine phase shifts the circadian clock in a manner similar to light. *Brain Res.* 613:149-151.
- Czeisler CA, Duffy JF, Shanahan TL, Brown EN, Mitchell JF, Rimmer DW, Ronda JM, Silva EJ, Allan JS, Emens JS, Dijk DJ, Kronauer RE. 1999. Stability, precision and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science.* 284:2177-2181.

Dai J, van der Vliet J, Swaab DF, Buijs RM. 1998. Human retinohypothalamic tract as revealed by in vitro postmortem tracing. *J Comp Neurol.* 307:357-370.

Damiola F, Le Minh N, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F, Schibler U. 2000. Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev.* 14:2950-2961.

- Davidson AJ, Aujard F, London B, Menaker M, Block GD. 2003a. Thermochron iButtons: An inexpensive method for long-term recording of core temperature in untethered animals. *J Biol Rhythms*. 18(5):430-432.
- Davidson AJ, Castanon-Cervantes O, Stephan FK. 2004. Daily oscillations in liver function: diurnal vs circadian rhythmicity. *Liver Int*. 24(3):179-186.
- Davidson AJ, Poole AS, Yamazaki S, Menaker M. 2003b. Is the food-entrainable circadian oscillator in the digestive system? *Genes Brain Behav*. 2:32-39.
- Davidson AJ, Stokkan AN, Yamazaki S, Menaker M. 2002. Food-anticipatory activity and liver per1-luc activity in diabetic transgenic rats. *Physiol Behav*. 76:21-26.
- de la Iglesia H, Cambras T, Schwartz WJ, Díez-Noguera A. 2004. Forced desynchronization of dual circadian oscillators within the rat suprachiasmatic nucleus. *Curr Biol*. 14(4):796-800.
- de Vries MJ, Treep JA, de Pauw SE, Meijer JH. 1994. The effects of electrical stimulation of the optic nerves and the anterior optic chiasm on the circadian activity rhythm of the Syrian hamster: involvement of excitatory amino acids. *Brain Res*. 642:206-212.
- Díez-Noguera A. 1994. A functional model of the circadian system based on the degree of intercommunication in a complex system. *Am J Physiol*. 267:1118-1135.
- Díez-Noguera A. 2006. Propiedades fundamentales de los ritmos biológicos. En: Madrid JA, Rol de Lama MA (eds). *Cronobiología básica y clínica*. Editec@red. Madrid. 83-121.
- Ding JM, Chen D, Weber ET, Faiman LE, Rea MA, Gillette MV. 1994. Resetting the biological clock: mediation of nocturnal circadian shifts by glutamate and NO. *Science*. 266:1713-1717.
- Dremencov E, Gur E, Lerer B, Newman ME. 2003. Effects of chronic antidepressants and electroconvulsive shock on serotonergic neurotransmission in the rat hippocampus. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 27(5):729-39.
- Dubocovich ML, Benloucif S, Masana MI. 1996. Melatonin receptors in the mammalian suprachiasmatic nucleus. *Behav Brain Res*. 73:141-147.

Dudley CA, Erbel-Sieler C, Estill SJ, Reick M, Franken P, Pitts SN, McKnight SL. 2003. Altered patterns of sleep and behavioral adaptability in NPAS2-deficient mice. *Science*. 301:379-383.

Eastman C, Rechtschaffen A. 1983. Circadian temperature and wake rhythms of rats exposed to prolonged continuous illumination. *Physiol Behav*. 31:417-427.

Edgar DM, Martin CE, Dement WC. 1991. Activity feedback to the mammalian circadian pacemaker: Influence of observed measures of rhythm period length. *J Biol Rhythms*. 6:185-199.

Edgar DM, Miller JD, Prosser RA, Dean RR, Dement WC. 1993. Serotonin and the mammalian circadian system. II. Phase-shifting rat behavioral rhythms with serotonergic agonists. *J Biol Rhythms*. 8:17-31.

Ehret CF, Groh KR, Meinert JC. 1978. Circadian dyschronism and chronotypic ecophilia as factors in aging and longevity. In: Samis HV, Campobianco S, eds. *Aging and biological rhythms*. New York: Plenum. 185-213.

Emens JS, Lewy AJ, Lefler BJ, Sack RL. 2005. Relative coordination to unknown "weak zeitgebers" in free-running blind individuals. *J Biol Rhythms*. 20:159-167.

Fitzsimons TJ, Le Magnen J. 1969. Eating as a regulatory control of drinking in the rat. *J Comp Physiol Psychol*. 67:273-283.

Follenius M, Weibel L, Brandenberger G. 1995. Distinct modes of melatonin secretion in normal men. *J Pineal Res*. 18(3):135-140.

Ford DE, Kamerow DB. 1989. Epidemiologic study of sleep disturbances and psychiatric disorders. *JAMA*. 262:1479-84.

Freedman MS, Lucas RJ, Soni B, von Schantz M, Munoz M, David-Gray Z, Foster R. 1999. Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science*. 284:502-504.

Fukada Y, Okano T. 2002. Circadian clock system in the pineal gland. *Mol Neurobiol.* 25(1):19-30.

Gilbert SS, van den Heuvel CJ, Ferguson SA, Dawson D. 2004. Thermoregulation as a sleep signalling system. *Sleep Med Rev.* 8:81-93.

Goldman BD, Darrow JM. 1983. The pineal gland and mammalian photoperiodism. *Neuroendocrinol.* 37:386-396.

Green DJ, Gillette R. 1982. Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. *Brain Res.* 245:283-288.

Güldner FH. 1983. Numbers of neurons and astroglial cells in the suprachiasmatic nucleus of male and female rats. *Exp Brain Res.* 50(2-3):373-376.

Haas H, Panula P. 2003. The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. *Nat Rev Neurosci.* 4:121-130.

Hanneman SK. 2001. Measuring circadian temperature rhythm. *Biol Res Nurs.* 2(4):236-248.

Hannibal J. 2002. Neurotransmitters of the retino-hypothalamic tract. *Cell Tissue Res.* 309:73-88.

Harrington ME, Rusak B. 1988. Ablation of the geniculo-hypothalamic tract alters circadian activity rhythms of hamsters housed under constant light. *Physiol Behav.* 42:183-189.

Hastings JW. 1970. The biology of circadian rhythms from man to micro-organism. *N Engl J Med.* 282(8):435-441.

Healy D, Waterhouse JM. 1995. The circadian system and the therapeutics of affective disorders. *Pharmacol Ther.* 65:241-263.

Ho SC, Wong TK, Tang PL, Pang SM. 2002. Nonpharmacologic sleep promotion: bright light exposure. *Complement Ther Nurs Midwifery.* 8(3):130-135.

- Hoffman RA, Reiter RJ. 1965. Rapid pinealectomy in hamsters and other small rodents. *Anat Rec.* 153(1):19-21.
- Hofman MA. 2004. The brain's calendar: neural mechanisms of seasonal timing. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 79(1):61-77.
- Holmes MM, Mistlberger RE. 2000. Food anticipatory activity and photic entrainment in food-restricted BALB/c mice. *Physiol Behav.* 68:655-666.
- Honma K, Hiroshige T. 1978. Internal synchronization among several circadian rhythms in rats under constant light. *Am J Physiol.* 235:243-249.
- Honma S, Honma K. 1985. Interaction between circadian and ultradian rhythms of spontaneous locomotor activity in rats during the early developmental period. In: Schulz H, Lavie P (eds). *Ultradian rhythms in physiology and behaviour* [Exp. Brain Res. Suppl. 12]. Heidelberg: Springer-Verlag. 95-108.
- Honma K, Honma S, Hiroshige T. 1986. Disorganization of the rat activity rhythm by chronic treatment with methamphetamine. *Physiol Behav.* 38(5):687-695.
- Illnerová H, Vanêcek J. 1979. Response of rat pineal serotonin N-acetyltransferase to one min light pulse at different night times. *Brain Res.* 167:431-434.
- Illnerová H, Vanêcek J. 1980. Pineal rhythm in N-acetyltransferase activity in rats under different artificial photoperiods and in natural daylight in the course of a year. *Neuroendocrinology.* 31:321-326.
- Inouye ST, Shibata S. 1994. Neurochemical organization of circadian rhythm in the suprachiasmatic nucleus. *Neurosci Res.* 20:109-130.
- Jacobs EH, Yamatodani A, Timmerman H. 2000. Is histamine the final neurotransmitter in the entrainment of circadian rhythms in mammals? *Trends Pharmacol Sci.* 21:293-298.
- Johnson RF, Johnson AK. 1990. Light/dark cycle modulates food to water intake ratios in rats. *Physiol Behav.* 48:707-711.

Johnson RF, Johnson AK. 1997. The interaction of meal-related, rhythmic and homeostatic mechanisms and the generation of thirst and drinking. *Braz J Med Biol Res.* 30:487-491.

Jud C, Schmutz I, Hampp G, Oster H, Albrecht U. 2005. A guideline for analyzing circadian wheel-running behavior in rodents under different lighting conditions. *Biol Proced Online.* 7(1):101-116.

Kalsbeek A, Buijs RM. 2002. Output pathways of the mammalian suprachiasmatic nucleus: coding circadian time by transmitter selection and specific targeting. *Cell Tissue Res.* 309: 109-118.

Kalsbeek A, Cutrera RA, van Heerikhuize JJ, van der Vliet J, Buijs RM. 1999. GABA release from SCN terminals is necessary for the light-induced inhibition of nocturnal melatonin release in the rat. *Neuroscience.* 91:453-461.

Kalsbeek A, Drijfhout WJ, Westerink BH, van Heerikhuize JJ, van der Woude TP, van der Vliet J, Buijs RM. 1996a. GABA receptors in the region of the dorsomedial hypothalamus of rats are implicated in the control of melatonin. *Neuroendocrinology.* 63:69-78.

Kalsbeek A, Garidou ML, Palm IF, van Der Vliet J, Simonneaux V, Pevet P, Buijs RM. 2000. Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin. *Eur J Neurosci.* 12:3146-3154.

Kalsbeek A, van der Vliet J, Buijs RM. 1996b. Decrease of endogenous vasopressin release necessary for expression of the circadian rise in plasma corticosterone: a reverse microdialysis study. *J Neuroendocrinol.* 8:299-307.

Kaupilla A, Kivela A, Pakarinen A, Vakkuri O. 1987. Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity. *J Clin Endocrinol Metab.* 65:823-828.

Kennaway DJ, Wright H. 2002. Melatonin and circadian rhythms. *Curr Top Med Chem.* 2:199-209.

- Khan A, Mirolo MH, Hughes D, Bierut L. 1993. Electroconvulsive therapy. *Psychiatr Clin North Am.* 16(3):497-513.
- King DP, Zhao YL, Sangoram AM, Wilsbacher LD, Tanaka M, Antoch MP, Steeves TDL, Vitaterna MH, Kornhauser JM, Lowrey PL, Turek FW, Takahashi JS. 1997. Positional cloning of the mouse circadian Clock gene. *Cell.* 89:641-653.
- Klein DC, Moore RY. 1979. Pineal N-acetyltransferase and hydroxyindole-O-methyltransferase: control by the retinohypothalamic tract and the suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 174:245-262.
- Ko CH, Takahashi JS. 2006. Molecular components of the mammalian circadian clock. *Hum Mol Genet.* 15(2):271-277.
- Korf HW, Schomerus C, Stehle JH. 1998. The pineal organ, its hormone melatonin, and the photoneuroendocrine system. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 146:1-100.
- Korf HW, Von Gall C, Stehle JH. 2003. The circadian system and melatonin: lessons from rats and mice. *Chronobiology Int.* 20(4):697-710.
- Krieger DT, Hauser H, Krey LC. 1977. Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. *Science.* 197:398-399.
- Kriegsfeld LJ, Korets S, Silver R. 2003. Expression of the circadian clock gene Period 1 in neuroendocrine cells: an investigation using mice with Per1:GTP transgene. *Eur J Neurosci.* 17:212-220.
- Kripke DF. 1983. Phase advance theories for affective illness. In: Wehr TA, Goodwin FK, eds. *Circadian rhythms in psychiatry.* Pacific Grove (CA): Boxwood Press.
- Kronauer RE, Czeisler CA, Pilato SF, Moore-Ede MC, Weitzman ED. 1982. Mathematical model of the human circadian system with two interacting oscillators. *Am J Physiol.* 242(1):3-17.
- Kuhlman SJ, McMahon DG. 2006. Encoding the Ins and Outs of circadian pacemaking. *J Biol Rhythms.* 21:470-481.

- Lambert GW, Reid C, Kaye DM, Jennings GL, Esler MD. 2002. Effect of sunlight and season on serotonin turnover in the brain. *Lancet*. 360:1840-1842.
- Leak RK, Card JP, Moore RY. 1999. Suprachiasmatic pacemaker organization analyzed by viral transynaptic transport. *Brain Res*. 819:23-32.
- Leak RK, Moore RY. 2001. Topographic organization of suprachiasmatic nucleus projection neurons. *J Comp Neurol*. 433(3):312-334.
- Lerner A, Case JD, Takahashi Y. 1958. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc*. 80:2857-2865.
- Lewy AJ, Ahmed S, Jackson JML, Sack RL. 1992. Melatonin shifts human circadian rhythms according to a phase-response curve. *Chronobiol Int*. 9:380-392.
- Lewy AJ, Emens JS, Bryan JL, Yuhas K, Jackman AR. 2005. Melatonin entrains free-running blind people according to a physiological dose-response curve. *Chronobiol Int*. 22:1093-1106.
- Lewy AJ, Sack RL, Blood ML, Bauer VK, Cutler NL, Thomas KH. 1995. Melatonin marks circadian phase position and resets the endogenous circadian pacemaker in humans. In: Chadwick DJ, Ackrill K, eds. *Circadian clocks and their adjustment*. New York: John Wiley. pp:303-316.
- Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP. 1980. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science*. 210:1267-1269.
- Liu T, Borjigin J. 2005. Reentrainment of the circadian pacemaker through three distinct stages. *J Biol Rhythm*. 20(5):441-450.
- Lockley SW, Skene DJ, Butler LJ, Arendt J. 1999. Sleep and the activity rhythms are related to circadian phase in the blind. *Sleep*. 22:616-623.

- Mcdonald RL, Olsen RW. 1994. GABA_A receptor channels. *Annu Rev Neurosci.* 17:569-602.
- Madrid JA, Sánchez-Vázquez FJ, Lax P, Matas P, Cuenca EM, Zamora S. 1998. Feeding behavior and entrainment limits in the circadian system of the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 275:372-383.
- Meyer-Bernstein EL, Morin LP. 1996. Differential serotonergic innervation of the suprachiasmatic nucleus and the intergeniculate leaflet and its role in circadian rhythm modulation. *J Neurosci.* 16(6):2097-2111.
- Middleton B. 2006. Measurement of melatonin and 6-sulphatoxymelatonin. *Methods Mol Biol.* 324:235-254.
- Mikkelsen JD, Larsen PJ. 1993. Substance P in the suprachiasmatic nucleus of the rat: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Histochemistry.* 100(1):3-16.
- Mistlberger RE. 1992a. Anticipatory activity rhythms under daily schedules of water access in the rat. *J Biol Rhythms.* 7(2):149-160.
- Mistlberger RE. 1992b. Nonphotic entrainment of circadian activity rhythms in suprachiasmatic nuclei ablated hamsters. *Behav Neurosci.* 106:192-202.
- Mistlberger RE. 1993. Effects of scheduled food and water access on circadian rhythms of hamsters in constant light, dark, and light-dark. *Physiol Behav.* 53:509-516.
- Mistlberger RE. 1994. Circadian food-anticipatory activity: formal models and physiological mechanisms. *Neurosci Biobehav.* 18(2):171-195.
- Mistlberger, RE. 2005. Circadian regulation of sleep in mammals: role of the suprachiasmatic nucleus. *Brain Res Rev.* 49(3):429-54.
- Moller M, Baeres FMM. 2002. The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell Tissue Res.* 309:139-150.

- Mongeau R, Blier P, de Montigny C. 1997. The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: their interactions and the effects of antidepressant treatment. *Brain Res Rev.* 23:145-195.
- Moore, RY. 1980. Suprachiasmatic nucleus, secondary synchronizing stimuli and the central neural control of circadian rhythms. *Brain Res.* 183:13-28.
- Moore RY. 1996. Neuronal control of the pineal gland. *Behav Brain Res.* 73:125-130.
- Moore RY, Lenn NJ. 1972. A retinohypothalamic projection in the rat. *J Comp Neurol.* 146:1-14.
- Moore RY, Speh JC. 1993. GABA is the principal neurotransmitter of the circadian system. *Neurosci Lett.* 150(1):112-116.
- Moore RY, Speh JC. 2004. Serotonin innervation of the primate suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 1010:169-173.
- Moore RY, Speh JC, Leak RK. 2002. Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell Tissue Res.* 309:89-98.
- Moore RY, Weis R, Moga MM. 2000. Efferent projections of the intergeniculate leaflet and the ventral lateral geniculate nucleus in the rat. *J Comp Neurol.* 420:398-418.
- Moore-Ede MC. 1986. Physiology of the circadian timing system: predictive versus reactive homeostasis. *Am J Physiol.* 250:737-752.
- Moore-Ede MC, Kass DA, Herd JA. 1977. Transient circadian internal desynchronization after light-dark phase shifts in monkeys. *Am J Physiol.* 232:31-37.
- Moore-Ede MC, Sulzman FM, Fuller CA. 1982. *The clocks that time us.* Harvard University Press.
- Morin LP, Allen CN. 2006. The circadian visual system, 2005. *Brain Res Rev.* 51(1):1-60.
- Morin LP, Blanchard JH. 2001. Neuromodulator content of hamster intergeniculate leaflet neurons and their projection to the suprachiasmatic nucleus or visual midbrain. *J Comp Neurol.* 437:79-90.

Morin LP, Shivers KY, Blanchard JH, Muscat L. 2006. Complex organization of mouse and rat suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience*. 137:1285-1297.

Mrosovsky N, Edelman K, Hastings MH, Maywood ES. 2001. Cycle of period gene expression in a diurnal mammal (*Spermophilus tridecemlineatus*): implications for nonphotic phase shifting. *J Biol Rhythms*. 6:471-478.

Navas-Cámara FJ. 2003. La termorregulación. En: *Fisiología Dinámica*. Córdoba A. Ed. Masson. 53:685-696.

Okamura H, Berod A, Julien JF, Geffard M, Kitahama K, Mallet J, Bobillier P. 1989. Demonstration of GABAergic cell bodies in the suprachiasmatic nucleus: in situ hybridization of glutamic acid decarboxylase (GAD) mRNA and immunocytochemistry of GAD and GABA. *Neurosci Lett*. 102(2-3):131-136.

Palm IF, van der Beek EM, Wiegant VM, Buijs RM, Kalsbeek A. 1999. Vasopressin induces a luteinizing hormone surge in ovariectomized, estradiol-treated rats with lesion of the suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience*. 93:659-666.

Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Maestroni GJM, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. 2006. Melatonin. Nature's most versatile biological signal. *FEBS J*. 273:2813-2838.

Parry BL. 2002. Jet lag: minimizing its effects with critically timed bright light and melatonin administration. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 4:463-466.

Paxinos G, Watson C. 1997. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 3rd ed Academic Press, California. Fig. 23.

Perreau-Lenz S, Kalsbeek A, Garidou ML, Wortel J, van der Vliet J, van Heijningen C, Simonneaux V, Pévet P, Buijs RM. 2003. Suprachiasmatic control of melatonin synthesis in rats: inhibitory and stimulatory mechanisms. *Eur J Neurosci*. 17:221-228.

- Perreau-Lenz S, Kalsbeek A, Pévet P, Buijs RM. 2004. Glutamatergic clock output stimulates melatonin synthesis at night. *Eur J Neurosci.* 19:318-324.
- Pickard GE, Rea MA. 1997. Serotonergic innervation of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus and photic regulation of circadian rhythms. *Biol Cell.* 89:513-523.
- Piggins HD, Loudon A. 2005. Circadian Biology: Clocks within clocks. *Curr Biol.* 15(12):455-457.
- Pittendrigh CS. 1988. The photoperiodic phenomena: seasonal modulation of the "day within". *J Biol Rhythms.* 3:173-188.
- Pittendrigh CS. 1993. Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher. *Annu Rev Physiol.* 55:17-54.
- Pittendrigh CS, Daan S. 1976. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents: I. The stability and lability of spontaneous frequency. *J Comp Physiol.* 106:223-252.
- Prosser RA, Miller JD, Heller HC. 1990. A serotonin agonist phase shifts the circadian clock in the suprachiasmatic nuclei *in vitro*. *Brain Res.* 534:336-339.
- R**ajaratnam SMW, Arendt J. 2001. Health in the 24-hour society. *Lancet.* 358:999-1005.
- Ralph MR, Foster RG, Davis FC, Menaker M. 1990. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science.* 247:975-978.
- Ralph MR, Menaker M. 1985. Bicuculline blocks circadian phase delays but not advances. *Brain Res.* 325:362-365.
- Ralph MR, Menaker M. 1986. Effects of diazepam on circadian phase advances and delays. *Brain Res.* 372:405-408.
- Ralph MR, Menaker M. 1989. GABA regulation of circadian responses to light. Involvement of GABA_A-benzodiazepine and GABA_B receptors. *J Neurosci.* 9:2858-2865.

- Rea MA, Glass JD, Colwell CS. 1994. Serotonin modulates photic responses in the hamster suprachiasmatic nuclei. *J Neurosci.* 14(6):3635-3642.
- Redfern P, Minors D, Waterhouse J. 1994. Circadian rhythms, jet lag, and chronobiotics: an overview. *Chronobiol Int.* 11(4):253-265.
- Refinetti R. 1999. Relationship between the daily rhythms of locomotor activity and body temperature in eight mammalian species. *Am J Physiol.* 277:1493-1500.
- Refinetti R. 2006. *Circadian physiology*. CRC Press. 2nd edition.
- Refinetti R, Menaker M. 1992. The circadian rhythm of body temperature. *Physiol Behav.* 51:613-637.
- Reiter RJ. 1968. Morphological studies on the reproductive organs of blinded male hamsters and the effects of pinealectomy or superior cervical ganglionectomy. *Anat Rec.* 160:13-23.
- Reiter RJ. 1991. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev.* 12:151-180.
- Reiter RJ. 1992. The ageing pineal gland and its physiological consequences. *Bioessays.* 14:169-175.
- Reiter RJ. 1993. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia.* 49:654-664.
- Reiter RJ. 2003. Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 17(2):273-285.
- Reiter RJ. 2006. Propiedades fundamentales de los ritmos biológicos. A: Madrid JA, Rol de Lama MA, eds. *Cronobiología básica y clínica*. Editec@red. Madrid. 269-288.
- Reppert SM, Weaver DR. 2002. Coordination of circadian timing in mammals. *Science.* 418:935-941.

- Reuss S, Decker K, Hodl P, Sraka S. 1994. Anterograde neuronal tracing of retinohypothalamic projections in the hamster – Possible innervation of substance P – containing neurons in the suprachiasmatic nucleus. *Neurosci Lett.* 174(1):51-54.
- Reuss S, Fuchs E. 2000. Anterograde tracing of retinal afferents to the tree shrew hypothalamus and raphe. *Brain Res.* 874:66-74.
- Rubin RT, Heist EK, McGeoy SS, Hanada K, Lesser IM. 1992. Neuroendocrine aspects of primary endogenous depression. XI. Serum melatonin measures in patients and matched control subjects. *Arch Gen Psychiatry.* 49:558-567.
- Rybak YE, McNeely HE, Mackenzie BE, Jain UR, Levitan RD. 2006. An open trial of light therapy in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Clin Psychiatry.* 67(10):1527-1535.
- Sack RL, Lewy AJ. 2001. Circadian rhythm sleep disorders: lessons from the blind. *Sleep Med Rev.* 5(3):189-206.
- Sack RL, Lewy AJ, Blood ML, Keith LD, Nakagawa H. 1992. Circadian rhythm abnormalities in totally blind people: incidence and clinical significance. *J Clin Endocrinol Metab.* 75(1):127-134.
- Sack RL, Lewy AJ, Erb DL, Vollmer VM, Singer CM. 1986. Human melatonin production decreases with age. *J Pineal Res.* 3:379-388.
- Sakamoto K, Nagase T, Fukui H, Horikawa K, Okada T, Tanaka H, Sato K, Miyake Y, Ohara O, Kako K, Ishida N. 1998. Multitissue circadian expression of rat period homolog (rPer2). mRNA is governed by the mammalian circadian clock, the suprachiasmatic nucleus in the brain. *J Biol Chem.* 273:27039-27042.
- Saper CB, Lu J, Chou TC, Gooley J. 2005. The hypothalamic integrator for circadian rhythms. *Trends Neurosci.* 28:152-157.
- Sassone-Corsi P. 1998. Coupling gene expression to cAMP signalling: role of CREB and CREM. *Int J Biochem Cell Biol.* 30:27-38.

- Satinoff E, Prosser RA. 1988. Suprachiasmatic nuclear lesions eliminate circadian rhythms of drinking and activity, but not of body temperature, in male rats. *J Biol Rhythms*. 3:1-22.
- Scheer FAJL, Pirovano C, van Someren EJW, Buijs RM. 2005. Environmental light and suprachiasmatic nucleus interact in the regulation of body temperature. *Neuroscience*. 132:465-477.
- Schibler U, Sassone-Corsi P. 2002. A web of circadian pacemakers. *Cell*. 111:919-922.
- Schwartz JR, Roth T. 2006. Shift work sleep disorder: burden of illness and approaches to management. *Drugs*. 66(18):2357-2370.
- Schwartz WJ, Zimmerman P. 1991. Lesions of the suprachiasmatic nucleus disrupt circadian locomotor rhythms in the mouse. *Physiol Behav*. 49(6):1283-1287.
- Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yamamoto S, Takekida S, Yan L, Tei H, Moriya T, Shibata S, Loros JJ, Dunlap JC, Okamura H. 1997. Light-induced resetting of a mammalian circadian clock is associated with rapid induction of the mPer1 transcript. *Cell*. 91:1043-1053.
- Shirakawa T, Honma S, Honma K. 2001. Multiple oscillators in the suprachiasmatic nucleus. *Chronobiol Int*. 18(3):371-387.
- Short RV, Armstrong SM. 1984. Method for minimizing disturbances in circadian rhythms and bodily performance and function. Australia Patent Application. PC 4737.
- Siegel PV, Gerathwohl SJ, Mohler SR. 1969. Time-zone effects. *Science*. 164:1249-1255.
- Silver R, LeSauter J, Tresco PA, Lehmann MN. 1996. A diffusible coupling signal from the transplanted suprachiasmatic nucleus controlling locomotor rhythms. *Nature*. 382:810-813.
- Simonneaux V, Ribelayga C. 2003. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev*. 55(2):325-395.

- Simpson HW. 1980. Chronobiotics: selected agents of potential value in jet lag and others dyschronisms. In: Scheving LE, Halberg F, eds. *Chronobiology: principles and applications to shifts in schedules*. Sijthoff & Noordhoff, Netherlands. 433-446.
- Slotten HA, Pitrosky B, Pevet P. 1999. Influence of the mode of daily melatonin administration on entrainment of rat circadian rhythms. *J Biol Rhythms*. 14:347-353.
- Sokolove PG, Bushell WN. 1978. The chi square periodogram: its utility for analysis of circadian rhythms. *J Theor Biol*. 72:131-160.
- Souêtre E, Salvati E, Pringuey D, Krebs B, Plasse Y, Darcourt G. 1986. The circadian rhythm of plasma thyrotropin in depression and recovery. *Chronobiol Int*. 3:197-200.
- Souêtre E, Salvati E, Wehr TA, Sack DA, Krebs B, Darcourt G. 1988. Twenty-four hour profiles of body temperature and plasma TSH in bipolar patients during depression and during remission and in normal control subjects. *Am J Psychiatry*. 145:1130-1133.
- Srinivasan V, Smits M, Spence W, Lowe AD, Kayumov L, Pandi-Perumal SR, Parry B, Cardinali DP. 2006. Melatonin in mood disorders. *World J Biol Psychiatry*. 7(3):138-151.
- Stephan FK. 1983. Circadian rhythm dissociation induced by periodic feeding in rats with suprachiasmatic lesions. *Behav Brain Res*. 7:81-98.
- Stephan FK. 1986. Coupling between feeding- and light-entrainable circadian pacemakers in the rat. *Physiol Behav*. 38(4):537-44.
- Stephan FK. 2002. The "other" circadian system: food as a zeitgeber. *J Biol Rhythms*. 17(4):284-292.
- Stephan FK. 2003. Broken circadian clocks: a clock gene mutation and entrainment by feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 285(1):32-33.
- Stephan FK, Swann JM, Sisk CL. 1979a. Anticipation of 24-hr feeding schedules in rats with lesions of the suprachiasmatic nucleus. *Behav Neural Biol*. 25:346-363.

- Stephan FK, Swann JM, Sisk CL. 1979b. Entrainment of circadian rhythms by feeding schedules in rats with suprachiasmatic lesions. *Behav Neural Biol.* 25(4):545-554.
- Stokkan KA, Yamazaki S, Tei H, Sakaki Y, Menaker M. 2001. Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science.* 291:490-493.
- Subramanian P, Subbaraj, R. 1993. Diazepam phase shifts the circadian clock of the field mouse *Mus booduga*. *J Biosci.* 18:103-110.
- Summer T, Ferraro J, McCormack C. 1984. Phase-response and Aschoff illuminance curves for locomotor activity rhythm of the rat. *Am J Physiol.* 246:299-304.
- Sumová A, Illnerová H. 1996. Melatonin instantaneously resets intrinsic circadian rhythmicity in the rat suprachiasmatic nucleus. *Neurosci Lett.* 218:181-184.
- Swanson LW, Cowan WM. 1975. The efferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. *J Comp Neurol.* 160(1):1-12.
- Takahashi JS, Zatz M. 1982. Regulation of circadian rhythmicity. *Science.* 217:1104-1111.
- Takamure M, Murakami N, Takahashi K, Huroda H, Etoh T. 1991. Rapid reentrainment of the circadian clock itself, but not the measurable activity rhythms, to a new light-dark cycle in the rat. *Physiol Behav.* 50:443-449.
- Tapp WN, Natelson BH. 1989. Circadian rhythms and patterns of performance before and after simulated jet lag. *Am J Physiol.* 257:796-803.
- Tei H, Okamura H, Shigeyoshi Y, Fukuhara C, Ozawa R, Hirose M, Sakaki Y. 1997. Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila* period gene. *Nature.* 389:512-516.
- Touitou Y, Bogdan A. 2007. Promoting adjustment of the sleep-wake cycle by chronobiotics. *Physiol Behav.* 90: 294-300.

Tuomisto L, Lozeva V, Valjakka A, Lecklin A. 2001. Modifying effects of histamine on circadian rhythms and neuronal excitability. *Behav Brain Res.* 124(2):129-35.

Turek FW, Earnest DJ, Swann J. 1982. Splitting of the circadian rhythm of activity in hamsters. In: Aschoff J, Daan S, Gross GA (eds). *Vertebrate circadian systems. Structure and physiology.* Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-New York. 203-214.

Turek FW, Pinto LH, Vitaterna MH, Penev PD, Zee PC, Takahashi JS. 1995. Pharmacological and genetic approaches for the study of circadian rhythms in mammals. *Front Neuroendocrinol.* 16:191-223.

U sui S, Okazaki T, Takahashi Y. 1999. The lower entrainable limit of rat circadian rhythm to sinusoidal light intensity cycles: A preliminary study. *Psychiatry Clin Neurosci.* 53:215-217.

Usui S, Takahashi Y, Okazaki T. 2000. Range of entrainment of rat circadian rhythms to sinusoidal light-intensity cycles. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 278(5):1148-1156.

V an den Pol AN. 1980. The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: intrinsic anatomy. *J Comp Neurol.* 191(4):661-702.

Van den Pol AN. 1991. The suprachiasmatic nucleus: Morphological and cytochemical substrates for cellular interaction. In: Klein DC, Moore RY, Reppert SM, eds. *Suprachiasmatic nucleus. The mind's clock.* Oxford University Press: New York. 17-50.

Van den Pol AN, Tsujimoto KL. 1985. Neurotransmitters of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus: immunocytochemical analysis of 25 neuronal antigens. *Neuroscience.* 15(4):1049-1086.

Van Esseveldt KE, Lehman MN, Boer GJ. 2000. The suprachiasmatic nucleus and the circadian time-keeping system revisited. *Brain Res Rev.* 33:34-77.

Vandesande F, Dierickx K, DeMey J. 1975. Identification of the vasopressin-neurophysin producing neurons of the rat suprachiasmatic nuclei. *Cell Tissue Res.* 156(3):377-380.

Vollrath L, Seidel A, Huesgen A, Manz B, Follow K, Leiderer P. 1989. One millisecond of light suffices to suppress nighttime pineal melatonin synthesis in rats. *Neurosci Lett.* 98:297-298.

Wakamatsu H, Yoshinobu Y, Aida R, Moriya T, Akiyama M, Shibata S. 2001. Restricted-feeding-induced anticipatory activity rhythm is associated with a phase shift of the expression of mPer1 and mPer2 mRNA in the cerebral cortex and hippocampus but not in the suprachiasmatic nucleus of mice. *Eur J Neurosci.* 13:1190-1196.

Waterhouse J, Edwards B, Atkinson G, Reilly T. 2006. Alteraciones exógenas de los ritmos biológicos. Trabajo a turnos. Jet-lag. En: Madrid JA, Rol de Lama MA, eds. *Cronobiología básica y clínica*. Editec@red. Madrid. 809-837.

Weaver DR. 1998. The suprachiasmatic nucleus: a 25-year retrospective. *J Biol Rhythms.* 13:100-112.

Wehr TA, Wirz-Justice A, Goodwin FK, Duncan W, Gillin JC. 1979. Phase advance of the circadian sleep-wake cycle as an antidepressant. *Science.* 206:710-713.

Wever RA. 1979. *The circadian system of man. Results of experiments under temporal isolation*. Springer-Verlag New York Inc. 43-71.

Weinert D. 2005. The temporal order of mammals. Evidence for multiple central and peripheral control mechanisms and for endogenous and exogenous components: some implications for research on aging. *Biol Rhythm Res.* 36(4):293-308.

Welsh DK, Logothetis DE, Meister M, Reppert SM. 1995. Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron.* 14:697-706.

White BH, Mosher K, Binkley S. 1985. Rat pineal N-acetyltransferase activity: stimulation, exhaustion, and recovery. *Endocrinology.* 777:1050-1056.

Wirz-Justice A. 2005. Chronobiological strategies for unmet needs in the treatment of depression. *Medicographia.* 27(3):223-227.

Wirz-Justice A. 2006. Biological rhythm disturbances in mood disorders. *Int Clin Psychopharmacol.* 21(1):11-15.

Wirz-Justice A, Richter R. 1979. Seasonality in biochemical determinations: a source of variance and a clue to the temporal incidence of affective illness. *Psychiatr Res.* 1:53-60.

Wollnik F, Turek FW. 1989. SCN lesions abolish ultradian and circadian components of activity rhythms in LEW/Ztm rats. *Am J Physiol.* 256:1027-1039.

Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, Block GD, Sakaki Y, Menaker M, Tei H. 2000. Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science.* 288:682-685.

Yannielli P, Harrington ME. 2004. Let there be "more" light: enhancement of light actions on the circadian system through non-photic pathways. *Prog Neurobiol.* 74:59-76.

Zee PC, Turek FW. 1999. Introduction to sleep and circadian rhythm. In: Turek FW, Zee PC, eds. *Regulation of sleep and circadian rhythms.* New York: Marcel Dekker. 1-18.

Zylka MJ, Shearman LP, Weaver DR, Reppert SM. 1998. Three period homologs in mammals: differential light responses in the suprachiasmatic circadian clock and oscillating transcripts outside of brain. *Neuron.* 20:1103-1110.

Zyss T. 1994. Deep magnetic brain stimulation: the end of psychiatric electroshock therapy? *Med Hypotheses.* 43(2):69-74.