



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

TESIS:

**IDENTIFICACIÓN DE PATRONES DE SUEÑO EN
ACOCILES MEDIANTE TÉCNICAS NO LINEALES**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO ELÉCTRICO Y ELECTRÓNICO**

PRESENTA:

MIREYA OSORIO PALACIOS

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. KARINA MENDOZA ÁNGELES

CIUDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO, D.F., JULIO 2016.



AGRADECIMIENTOS

Con aprecio y admiración a la Dra. Karina Mendoza Angeles, por su dedicación y compromiso en la elaboración de este trabajo. Por compartir sus conocimientos y ser pieza fundamental de nuevos proyectos.

Mi agradecimiento también al Dr. Jesús Hernández Falcón, por su apoyo y colaboración y en general al Laboratorio de Redes Neuronales.

A mi madre, Ana María Palacios por su apoyo y confianza y a mis hermanos Juanela, Marcos, Moisés, José Alberto y Adrián.

A Alison y mis pequeños nuevos integrantes Aurelio y Gretel.

Finalmente, un agradecimiento a mis amigos: Antonio, César, Luis y Julio por siempre estar.

En especial a Alma, Diana, Jessica y Raquel.

A

Redes Universitarias

con $1 - \cos \Theta$

El presente trabajo fue realizado en el
Laboratorio de Redes Neuronales de la Facultad de Medicina,
Parcialmente financiado por el Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IN204014

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Definición de sueño	1
1.2. Sueño en el acocil	5
1.3. Conducta agonista en el acocil	7
1.4. Anatomía del sistema nervioso del acocil	9
1.5. Análisis de señales	12
1.5.1. Análisis en tiempo-frecuencia	12
1.5.2. Transformada wavelet	14
2. Planteamiento del problema	16
3. Objetivo	18
4. Diseño Experimental	19
5. Material y Métodos	21
5.1. Material biológico	21
5.2. Preparación biológica	21
5.3. Obtención de registros conductuales y electrofisiológicos	22
5.3.1. Animales aislados	22
5.3.2. Animales en interacción	23
5.4. Análisis de los registros conductuales	24
5.5. Análisis de los registros electrofisiológicos	25
6. Resultados	
6.1. Registros conductuales	26
6.2. Registros electrofisiológicos	32
7. Conclusiones	37
8. Trabajo a futuro	38
9. Referencias	39
10. Anexos	42

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sueño

Los dos principales estados de vigilancia identificados en prácticamente todos los animales son vigilia y sueño.

La vigilia es un estado en el cual el individuo está consciente del ambiente que le rodea y tiene la capacidad de interactuar con él, respondiendo a los estímulos que recibe, la actividad eléctrica cerebral registrada es desincronizada (con frecuencia de 8 a 12 Hz, a lo que se denomina ritmo β).

El sueño es definido por criterios conductuales y electrofisiológicos. Los criterios conductuales incluyen: (1) una posición especie-específica; (2) quiescencia; (3) una elevación en el umbral de respuesta a estímulos sensoriales y (4) una rápida reversibilidad de esta conducta (**Flanigan y cols., 1974**). Los criterios electrofisiológicos se refieren a las características de las ondas encefálicas.

En mamíferos y aves, el sueño está asociado con patrones electroencefalográficos específicos, a partir de los cuales se ha dividido en dos etapas, sueño con movimientos oculares rápidos (MOR) y sueño sin movimientos oculares rápidos (NMOR). El primero está caracterizado por un electroencefalograma (EEG) y una actividad autonómica similares a las que se registran durante la vigilia, por lo que también se ha llamado “sueño paradójico”. Las ondas cerebrales son rápidas y desincronizadas, la respiración se hace más rápida e irregular, incrementan la frecuencia cardíaca y la presión sanguínea; los ojos se mueven rápidamente en forma conjugada y en diferentes direcciones, los músculos antigravitatorios se paralizan temporalmente por lo que se registra una intensa disminución del tono muscular. Durante esta fase de sueño es donde se reporta la ocurrencia de muchas de las ensoñaciones.

Por otra parte, el sueño NMOR se caracteriza por ondas de alta amplitud y baja frecuencia y disminución de la regulación autonómica. El sueño NMOR está compuesto por cuatro fases en función de las características de la actividad eléctrica cerebral (**Mignot, E., 2008**).

En la primera fase el EEG se distingue por la desaparición del patrón regular (alfa, frecuencia de 4 a 8 Hz) e instauración de un patrón de amplitud baja y de frecuencia mixta, predominante en el intervalo de 2 a 4 Hz (ritmo theta), esto asociado con movimientos oculares conjugados lentos. Las actividades cerebral y muscular comienzan a disminuir durante este estado y es posible que el sujeto experimente sacudidas musculares súbitas, así como la sensación de adormecimiento. La fase 2 se caracteriza por una disminución en la frecuencia dominante en el EEG, la presencia de los denominados “complejos K” o husos del sueño (12-14 Hz) y el cese de los movimientos oculares lentos. Las fases 3 y 4 son denominadas en conjunto sueño de ondas lentas (SOL). Ambas se caracterizan por la presencia de ondas con frecuencia de 0.5 a 2 Hz, ritmo delta. La fase 3 presenta más del 20% pero menos del 50% de actividad delta, en tanto que durante la fase 4, la actividad delta comprende más del 50% del tiempo de registro. El sueño es más profundo, el despertar es más difícil, no se observan movimientos oculares y la actividad muscular disminuye. En medicina clínica del sueño, en la actualidad las etapas de sueño fueron agrupadas y únicamente se habla de dos fases de sueño; sueño ligero (primeras dos fases) y sueño de ondas lentas (últimas dos fases).

El sueño está organizado en ciclos, el sueño MOR sigue al sueño NMOR. La periodicidad de los ciclos varía de unos pocos minutos a pocas horas.

La estructura del ciclo sueño-vigilia muestra cambios notables relacionados con el ciclo de vida de un individuo. Por ejemplo, un ser humano al nacer requiere dormir durante un promedio de 16 horas; esta cantidad va disminuyendo, y ya en la juventud se requieren en promedio ocho horas, mientras que en la vejez se reduce

aún más. Es decir, los patrones de distribución temporal se ven afectados con la edad.

Cambios en los patrones de sueño se han correlacionado también con maduración cerebral, procesos de atención, aprendizaje, consolidación de la memoria, etc. (**Rasch y cols., 2013**).

Se considera que el sueño es un proceso activo durante el cual se llevan a cabo procesos fisiológicos esenciales para el funcionamiento del individuo y se ha propuesto que cumple distintas funciones, entre ellas: un papel restaurador, adaptación a las condiciones ambientales y para consolidar la memoria (**Graves y cols., 2001; Aldrich, 1999; Muzur, 2005; Krueger y cols., 1999; Krueger y Obal, 2003; Flanigan y cols., 1971; Ayala-Guerrero y Reyna, 1987; Ayala-Guerrero y Huitrón-Reséndiz, 1991**).

Otra de las funciones atribuidas al sueño, y especialmente al sueño MOR, es la maduración del cerebro en etapas tempranas de la ontogenia, en particular de animales neoténicos (**Roffwarg y cols., 1966**), aunque esto no se aplica a todos los mamíferos (**Siegel, 2005**). Por otra parte, se ha considerado que el sueño favorece la consolidación de la memoria afectiva (**Sterpenich y cols. 2009**), que el sueño MOR es importante para el aprendizaje (**Graves y cols., 1999, Hornung y cols., 2007**), que los husos de sueño favorecen la consolidación de la memoria declarativa (**Schabus y cols., 2004**), y que el sueño NMOR favorece la memoria motora (**Rasch y cols., 2013**). En resumen, no existen consensos, ni una idea clara sobre cuál o cuáles son las funciones del sueño pero la mayoría de los investigadores coinciden en que se correlaciona con procesos de memoria y aprendizaje.

Las interrogantes respecto a la función del sueño se profundizan al analizar su amplia distribución en la escala filogenética. Se han encontrado conductas de tipo sueño (inmovilidad y aumento en el umbral sensorial) en peces, reptiles, anfibios,

y en varios invertebrados (**Campbell y Tobler, 1984**). Una característica común durante el sueño en los vertebrados es la aparición de ondas lentas, que indican la sincronización de grandes grupos neuronales.

Por otro lado, los invertebrados representan un grupo de gran variedad de organismos, con planes corporales mucho más diversos que los de los vertebrados, pero con tamaños, por lo regular, pequeños. En este grupo se han descrito muchas conductas de reposo, que se han analizado más en la óptica de los ritmos circadianos que en la de sueño. Se han descrito estados de tipo sueño en escorpiones (**Tobler y Stalder, 1988**), moscas (**Hendricks y cols., 2000; Shaw y cols., 2000; Shaw y Franken, 2003; Greenspan y cols., 2001**), avispas (**Klein y cols., 2003**) y abejas (**Kaiser, 1988; Sauer y cols., 2003**). Hasta el momento, el acicil es el único invertebrado en el que se ha descrito el sueño a partir de criterios conductuales y electrofisiológicos utilizando una preparación de animal completo y deambulante (**Ramón y cols., 2004**).

1.2. Sueño en el acocil

El acocil es un invertebrado con un cerebro relativamente 'simple' en el que se han estudiado los principales grupos neuronales que lo forman y muchas de sus funciones.

Se ha usado como modelo de estudio de algunas de las funciones cerebrales de las llamadas 'complejas', debido a que en éste decápodo es posible colocar crónicamente electrodos extracelulares sobre la superficie del cerebro y mantenerlos durante periodos prolongados (**Hernández y cols., 1996**). De esta manera se han registrado potenciales evocados de tipo visual, respuestas a estímulos omitidos y señales asociadas con el procesamiento de información visual (**Hernández-Falcón y cols., 1999**) en el animal deambulante. Usando esta preparación se caracterizó el sueño en el acocil (**Ramón y cols., 2004**).

Desde el punto de vista conductual y en condiciones de laboratorio, en el acocil es posible observar básicamente dos tipos de comportamiento: a) en alerta, desplazándose por el acuario, explorándolo e interactuando con sus conespecíficos (**Figura 1.1 A**); b) Inmóvil, de lado a nivel de la superficie del agua. Cuando el acocil presenta esta posición estereotípica con las quelas extendidas comúnmente contra una pared del acuario (**Figura 1.1 B**) hay un incremento en el umbral a estímulos mecánicos, ausencia de las señales eléctricas que indican procesos cognitivos (potenciales al estímulo omitido) y cambios en el patrón de actividad eléctrica cerebral específicos. Esta conducta ha sido definida como sueño, en la medida que cumple con los criterios convencionales.

Los acociles duermen a cualquier hora del día o la noche, pero lo hacen por periodos más largos durante la noche (**Ramón y cols., 2004**).

A)



B)

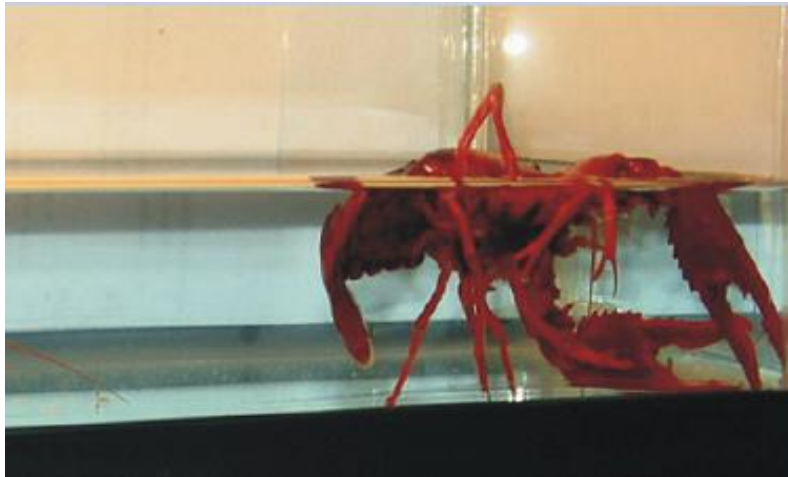


Figura 1.1. Posiciones del acocil. A) Alerta. B) Dormido.

Las señales eléctricas obtenidas del cerebro del acocil resultan ser de carácter no estacionario, debido a que algunos de los parámetros estadísticos (media móvil y desviación estándar móvil) que definen ésta propiedad varían a lo largo del tiempo (**Mendoza Ángeles y cols., 2007**).

El análisis de la actividad eléctrica del cerebro del acocil mediante técnicas no lineales, como la transformada wavelet, ha permitido concluir que en el animal alerta la mayoría de las frecuencias presentes oscilan en un intervalo de 100-300 Hz. La frecuencia dominante es de alrededor de los 40 Hz. Cuando el animal se pone de lado y duerme, las espigas son sustituidas por ondas lentas con

frecuencias de entre 15-20 Hz y por un significativo decremento en la potencia en el rango de 30-45 Hz.

Todas las observaciones hechas hasta ahora indican que, mientras el animal deambule o interactúe con el medio, sea explorando el entorno o interactuando con otros acociles (ver **sección 1.3**), la actividad eléctrica del cerebro presenta las mismas características. Esto no ocurre cuando el animal duerme.

El uso de un animal con un cerebro relativamente 'simple', pero con procesos cognitivos similares a los que presentan los vertebrados, sería ideal para estudiar los mecanismos de generación y operación de la memoria y sus relaciones con el sueño. Entre los procesos estudiados ampliamente en el acocil se encuentra el establecimiento de un orden jerárquico de dominancia-sumisión a través del despliegue de una conducta agonista.

1.3. Conducta agonista en el acocil

Al ser colocados en interacción social, los acociles, al igual que otros crustáceos, inician un enfrentamiento agonista que resulta en el establecimiento de una organización jerárquica en la que un animal es dominante y los otros sumisos y que prevalece por meses.

La conducta agonista tiene un gran significado adaptativo, en la medida en que el animal que es dominante tiene ventajas sobre sus congéneres en cuanto a la disponibilidad de alimento, pareja y refugio (**Delgado-Morales y cols., 2004**).

En los crustáceos (**Figura 1.2.**) el comportamiento agonista es ritual y puede ser cuantificado, además de que se han identificado sistemas neuronales y algunos neurotransmisores, como la serotonina y la octopamina, que juegan un papel importante en el desarrollo y expresión de esta conducta (**Kravitz, 2000**).



Figura 1.2. Interacción agonista entre dos acociles machos.

En el acocil, la conducta agonista está expresada por un cierto número de comportamientos denominados contactos positivos y contactos negativos. Los primeros están orientados a la aproximación entre los conespecíficos (conducta de acercamiento) donde se reúnen todos los patrones de comportamiento agonista que dirigen a un animal hacia un oponente y son de amenaza, ataque y combate, mientras que los segundos consisten en evitar cualquier contacto con sus conespecíficos y son de retirada y evasión.

Se ha planteado que algunos de los factores que determinan la dominancia en crustáceos como los acociles, son el tamaño físico, el tamaño de la quela o del caparazón, así como las experiencias previas ganadoras que incrementan la probabilidad de ser dominante en el siguiente encuentro agonista.

El mantenimiento de la estructura social entre los individuos de un grupo depende principalmente del olfato (**Delgado-Morales y cols., 2004**). Resultados preliminares obtenidos en el laboratorio indican que el reconocimiento a largo plazo de los conespecíficos depende de la memoria que se consolida después del

primer encuentro agonista y que la privación de sueño de alguna manera interfiere en dicha consolidación.

Por otra parte, los patrones de sueño parecen ser distintos en los animales dominantes y los sumisos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar estos patrones en acociles aislados y en interacción social.

1.4. Anatomía del sistema nervioso del acocil

Para la realización de este trabajo se obtuvieron registros de la actividad eléctrica del cerebro del acocil mediante electrodos implantados en deutocerebro. Debido a esto es conveniente hacer una explicación breve de la anatomía del sistema nervioso de este animal (**Figura 1.3**).

El acocil tiene un sistema nervioso distribuido, compuesto por un cerebro, un ganglio subesofágico, 5 ganglios torácicos y 6 ganglios abdominales.

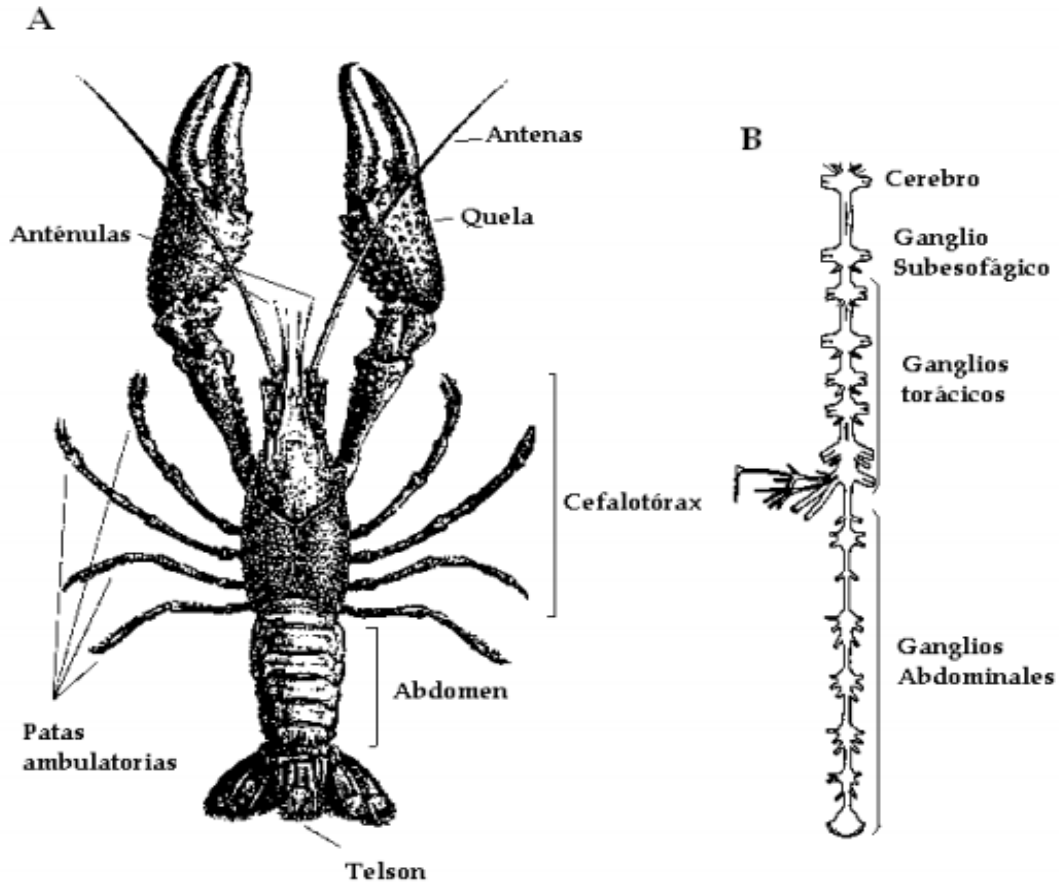


Figura 1.3. A) Vista dorsal del acocil. B) Sistema nervioso del acocil. Modificada de Cattaert y LeRay, 2001.

El cerebro del acocil está conformado por la fusión de tres ganglios embrionarios: el más rostral denominado protocerebro, le sigue deutocerebro y por último el más caudal tritocerebro (**Figura 1.4**). Los nervios ópticos llevan la información visual al protocerebro, mientras que el deutocerebro contiene los lóbulos olfatorios, los neuropilos de la antena I (mecanorreceptores y neuronas motoras) y los lóbulos accesorios. El tritocerebro forma un par de conectivos que se extienden alrededor del esófago hacia el ganglio subesofágico, los cuales permiten la comunicación entre el cerebro y el cordón nervioso central. Al tritocerebro también llegan algunos nervios antenulares así como ciertos nervios sensoriales de la región anterior de la cabeza.

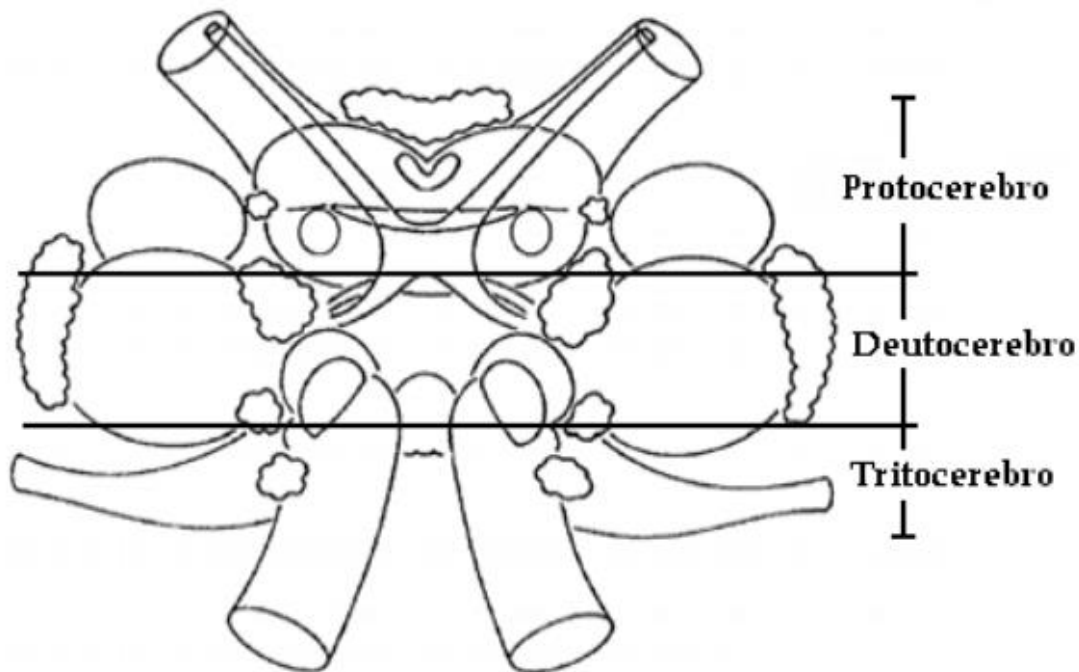


Figura 1.4. Cerebro del acocil (Modificada de Sandeman y cols., 1992).

El ganglio subesofágico controla los movimientos de la mandíbula, la maxila y los maxilípedos.

El primer ganglio torácico controla los quelíceros y los siguientes 4 ganglios inervan los apéndices motores del cefalotórax.

En los primeros cinco ganglios abdominales se encuentra el control de los apéndices asociados a cada segmento de esta región del cuerpo y también de cada uno de los músculos abdominales. El sexto ganglio se encarga de los urópodos, del telson, de la musculatura anal y de la parte posterior del tubo digestivo (**Sandeman y cols., 1992; Delgado-Morales, 2004**).

Para realizar este trabajo se implantaron electrodos en deutocerebro debido a que registros eléctricos de diferentes áreas cerebrales muestran que cuando el acocil está activo (despierto), las ondas lentas características de sueño, únicamente

están presentes en el complejo central. Sin embargo, cuando el acocil adopta la posición de lado, las ondas lentas se propagan primero a deutocerebro y posteriormente a protocerebro, sugiriendo que el complejo central del cerebro del acocil actúa como un generador de sueño (**Mendoza-Ángeles y cols., 2010**).

1.5. Análisis de señales

1.5.1. Análisis en tiempo-frecuencia

Las señales son representaciones a través de una función de una variable física y contienen la información del comportamiento de cualquier proceso que involucre a esa variable dada. Para una aplicación práctica, un proceso físico puede ser descrito en el dominio del tiempo (t) mediante valores representados por una función $f(t)$, o alternativamente, en el dominio de la frecuencia (w), mediante una serie de amplitudes representadas por $F(w)$. Las mismas contienen exactamente la misma información sobre la señal.

La transformada de Fourier es un procedimiento matemático que descompone una función en las frecuencias que le forman. Sin embargo, el análisis de Fourier presenta un gran problema al pretender determinar el instante en que ocurre un evento en particular. También está la transformada Rápida de Fourier (TRF), que es una herramienta con la capacidad de representar un proceso físico, tanto en el dominio del tiempo como en la frecuencia. Solo es válida para señales estacionarias, debido a que está definida globalmente.

Para describir el comportamiento frecuencial de señales de tipo no estacionario, han surgido representaciones tiempo-espectrales ($t-w$) como la transformada de Fourier en corto tiempo (TFCT), la transformada Gabor y la transformada wavelet (TW).

En la transformada de Fourier en corto tiempo, el principal propósito de la porción de señal elegida, es limitar la extensión de la secuencia que se va a transformar

de forma que las características espectrales sean razonablemente estacionarias en el intervalo de duración de la ventana. Cuanto más cortas sean las variaciones de la señal, más corta debe ser la ventana. La correcta selección de la longitud de la ventana define la precisión en el hallazgo de frecuencias y su ubicación en el tiempo. Una ventana más pequeña da mayor opción a determinar variaciones en el tiempo, pero decrece la resolución en frecuencia, de manera inversa, al ampliar la longitud de la ventana, amplía la resolución en frecuencia, pero no se permite la resolución en el tiempo.

El problema de la resolución tiempo-frecuencia es el resultado del principio de incertidumbre de Heisenberg, que establece que no puede conocerse la información puntual de una señal en el plano tiempo-frecuencia. Es decir, no pueden determinarse exactamente qué frecuencias existen en un instante dado. Sin embargo, es posible analizar en tiempo y frecuencia una señal empleando una técnica llamada análisis multirresolución.

En 1946 Denis Gabor adaptó la Transformada de Fourier, dando lugar a la Transformada Gabor que es un tipo especial de TFCT, en la que el principio de incertidumbre se lleva al mínimo al utilizar una ventana de tipo gaussiano para la localización de las frecuencias en el tiempo.

Estos métodos son incapaces de identificar los momentos en que una señal no estacionaria presenta cambios abruptos en su frecuencia, por lo tanto existe pérdida de información en el análisis.

Las técnicas de multirresolución analizan la señal para distintas frecuencias con diferentes resoluciones. Dicho análisis está diseñado para proporcionar una buena resolución temporal y pobre resolución en frecuencia para las altas frecuencias y buena resolución en frecuencia y baja en tiempo para bajas frecuencias. Es la idea básica que subyace detrás de la transformada wavelet, y de ella resulta la gran ventaja que presenta frente a la TFCT.

1.5.2. Transformada wavelet

La transformada wavelet es un método que proporciona buena resolución en tiempo y frecuencia en cualquier ubicación del plano $t-w$. Es decir, tenemos una ventana que decrece en el tiempo mientras analizamos los componentes de alta frecuencia e incrementa en el tiempo para analizar los componentes de baja frecuencia de la señal.

La transformada wavelet de una función está definida como:

$$W_{\psi} f(b, a) := \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \overline{\psi_{b,a}(t)} dt \quad \text{Ec. 1.1.}$$

y donde,

$$\psi_{b,a}(t) = \frac{1}{\sqrt{a}} \psi\left(\frac{t-b}{a}\right) \quad \text{Ec. 1.2.}$$

Los parámetros b y a son llamados de translación y dilatación respectivamente.

El factor de normalización $a^{-1/2}$ es incluido tal que:

$$\|\psi_{b,a}\| = \|\psi\|.$$

Para que sea una función de ventana capaz de representar $f(t)$ tanto en el dominio del tiempo como en la frecuencia, $\psi(t)$ debe satisfacer la siguiente condición:

$$\hat{\psi}(0) = \int_{-\infty}^{\infty} \psi(t) dt = 0 \quad \text{Ec. 1.3.}$$

Para satisfacer la ecuación 1.3 es necesario que la función wavelet (ventana $t-\omega$) se construya de tal modo que posea un alto número de momentos que converjan a 0. Se dice que una wavelet tiene un orden de momentos convergentes m si:

$$\int_{-\infty}^{\infty} t^p \psi(t) dt = 0 \quad p=0, \dots, m-1 \quad \text{Ec. 1.4.}$$

En la ecuación 1.2, al reducir el parámetro a , la cobertura en tiempo de $\psi_{b,a}$ se reduce abarcando un intervalo de frecuencias más amplio, y viceversa; por lo tanto, $1/a$ es una medida de frecuencia. Por otro lado, el parámetro b indica la localización de la ventana wavelet a lo largo del eje del tiempo. Por ello, modificando (b, a) , $W_{\psi}f$ puede calcularse en todo el plano $t-\omega$ (**Akay, 1995**).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Pese a los múltiples estudios que se han realizado, todavía no sabemos cuál es la función, o funciones, que cumple el sueño. Los diferentes modelos biológicos usados hasta ahora muestran que el sueño es indispensable no sólo para tener una buena calidad de vida, sino para el mantenimiento de la vida misma.

El acocil puede usarse como modelo de estudio de sueño debido a que el análisis de registros simultáneos de conducta y de actividad eléctrica cerebral ha permitido concluir que este animal duerme de acuerdo con los criterios conductuales y electrofisiológicos que definen este estado.

Los acociles son animales territoriales que al encontrarse con sus conespecíficos despliegan una conducta agonista. Ésta da como resultado el establecimiento de una jerarquía social integrada por un animal dominante y varios animales sumisos. Dicha jerarquía permanece constante a lo largo del tiempo, lo que indica que el acocil parece recordar cuál es su lugar en el orden jerárquico que se establece durante la interacción.

Los registros obtenidos de observaciones conductuales, indican que el patrón de sueño de los acociles dominantes es distinto al de los animales sumisos. Al parecer la dominancia está asociada con una gran habilidad para adaptarse incluso en funciones complejas como el sueño. Por lo tanto, es posible postular que los patrones de sueño están asociados con el orden jerárquico sin que se haya determinado si es el patrón de sueño el que determina el papel que el acocil jugará en el orden jerárquico o bien, si la escala jerárquica es la que determina el patrón de sueño de los acociles de una triada

Considerando que, la señal eléctrica registrada del cerebro del acocil que define el sueño es de tipo no estacionario y susceptible de ser analizada por medio de

técnicas no lineales, es posible proponer que las diferencias en los patrones electroencefalográficos de sueño entre animales sumisos y dominantes durante la interacción social, se harán evidentes por medio de técnicas de análisis multirresolución.

3. OBJETIVO

El objetivo de este proyecto fue estudiar los patrones conductuales y electrofisiológicos del sueño de acociles adultos *Procambarus clarkii*, en condiciones de aislamiento y durante el establecimiento de una relación social del tipo dominancia-sumisión con la finalidad de identificar, si las hubiera, diferencias en los patrones de los animales sumisos y los dominantes.

4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para cumplir el objetivo propuesto, se desarrolló el trabajo experimental de la siguiente manera (**Figura 4.1**):

Se utilizaron triadas de acociles para la realización de todo el trabajo. Se llevaron a cabo registros simultáneos de conducta y de actividad eléctrica cerebral en dos diferentes condiciones: 1) en aislamiento, en la que cada integrante de la triada era registrado en un acuario individual y 2) en interacción, en la que los tres acociles eran colocados y registrados en un acuario común.

Los registros de cada triada de acociles tuvieron una duración de doce horas continuas por día para cada condición establecida.

A partir de los cambios de posición de cada acocil (de lado o parado), se construyeron gráficos de patrones de sueño conductual para cada animal en cada una de las condiciones experimentales que posteriormente se correlacionaron con la actividad electrofisiológica adquirida durante el registro.

Cuando el acocil se encontraba en alerta los registros de la actividad eléctrica presentaban espigas con una frecuencia máxima de 300 Hz, cuando la actividad eléctrica presentaba ondas lentas con frecuencias de 15-20 Hz, indicaba que el acocil se encontraba en estado de sueño (**Ramón y cols., 2004**). Usando estos criterios fue posible identificar, que el acocil estuviera correctamente implantado sobre deutocerebro (que durante el sueño presenta ondas lentas).

Una vez obtenidos los registros eléctricos en condiciones de aislamiento y en interacción social fueron analizados mediante transformada wavelet.

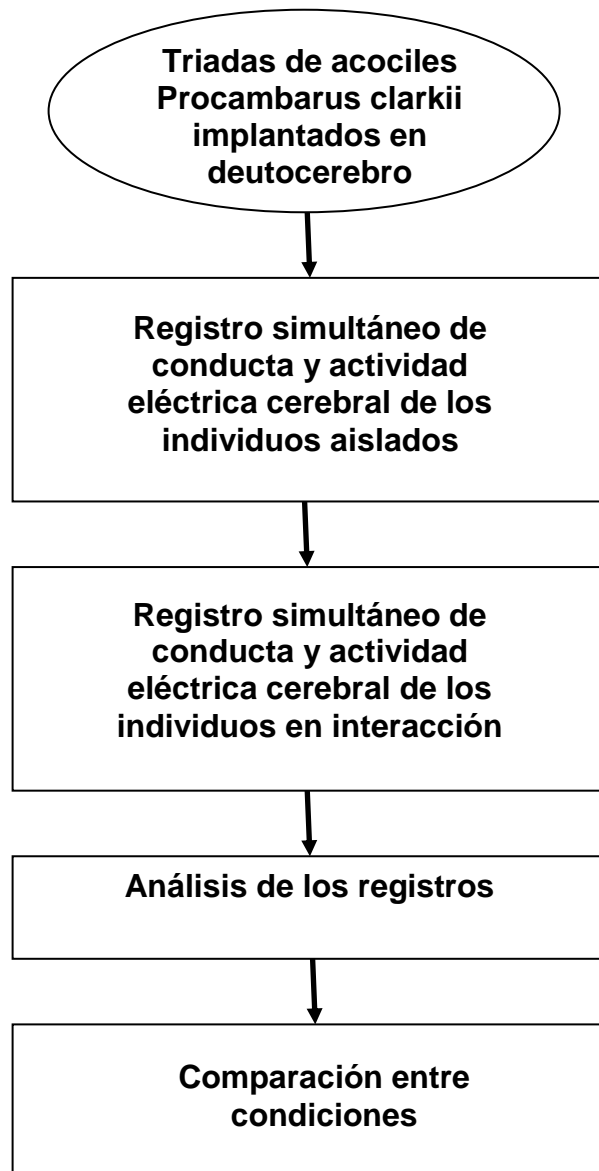


Figura 4.1. Diseño experimental.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Material biológico

Los experimentos se realizaron en acociles machos adultos, *Procambarus clarkii* (8-12 cm de *rostrum* a *telson*) en intermuda, con los apéndices completos. Desde su llegada al laboratorio los animales se colocaron en acuarios individuales de 20x15x15 cm, bajo ciclos de luz-oscuridad 12:12 (encendido a las 7:00, apagado a las 19:00 h) y fueron alimentados una vez a la semana con croquetas para gato.

Los acociles utilizados en estos registros fueron agrupados en triadas (n=5) de tamaño y peso equivalente (diferencia máxima de 10%), lo que evitó sesgos durante las interacciones agonistas.

Los animales seleccionados fueron marcados con esmalte acrílico sobre el cefalotórax y colocados en acuarios individuales.

5.2 Preparación biológica

En acociles previamente anestesiados con frío (ver **Anexo 1**), se realizó un hueco en el caparazón dorsal, se hizo una disección roma de los músculos de la cabeza desplazando las vísceras hacia atrás (principalmente el estómago), reteniéndolos en esa posición mediante un separador de plástico, de tal manera que quedara expuesto el fondo de la cavidad cefálica y el cerebro. Se retiraba la hemolinfa y se colocaba la preparación bajo el microscopio estereoscópico. Con ayuda de un micromanipulador se descendió el electrodo hasta colocarlo en el deutocerebro, procurando se formara un sello eléctrico en el momento en que todo el borde de la cánula estuviera asentado sobre el cerebro. La cánula se usa como electrodo de referencia y se pega al exoesqueleto con cemento dental. Los

animales se dejaron recuperar de la cirugía por al menos 24 horas en acuarios individuales.

Para la fabricación de los electrodos se utilizaron cánulas de acero inoxidable (1 mm de diámetro externo) que en su interior portaban dos alambres de platino-iridio (127 μm de diámetro) recubiertos de teflón y por fuera un alambre soldado también de platino-iridio. Las puntas de alambre sobresalen cerca de 0.5 mm de la cánula y penetran en la vaina de tejido conectivo que recubre el cerebro. Este diseño permite obtener un registro de campo en la vecindad delimitada por la cánula.

5.3. Obtención de registros conductuales y electrofisiológicos

5.3.1. Animales aislados

Para determinar los cambios de posición de un acocil a lo largo del día, se obtuvieron videos ininterrumpidos durante 12 horas (inicio 7:00, término 19:00) de los miembros de cada triada de acociles. Los animales, previamente implantados con electrodos en la superficie cerebral, se encontraban aislados en acuarios individuales (**Figura 5.1**).

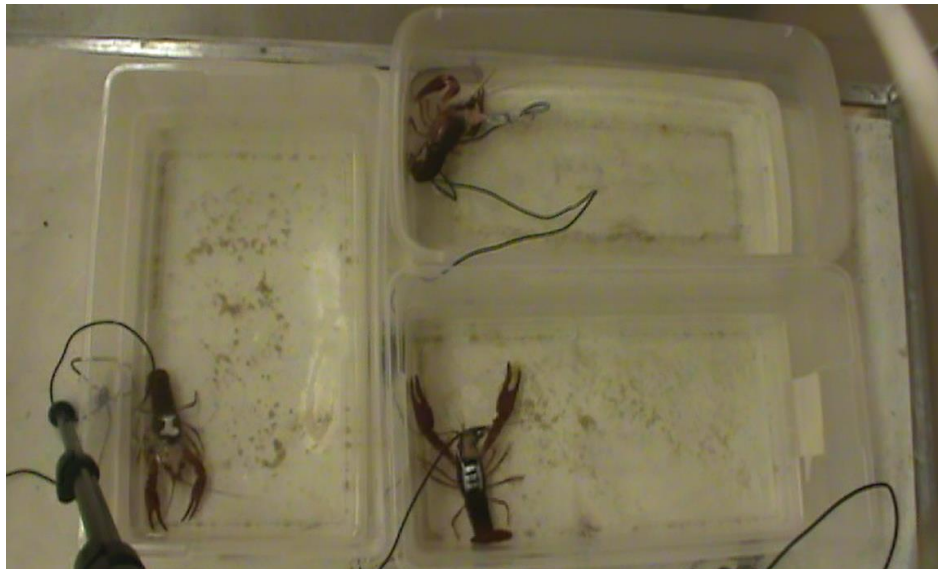


Figura 5.1. Registro conductual y electrofisiológico de triada de acociles en condiciones de aislamiento.

De manera simultánea, se obtuvieron registros electrofisiológicos. Para ello, se envió la actividad eléctrica cerebral recogida por los electrodos a amplificadores de AC (BM400, CWE), en ellos se filtraron las señales con un pasabandas de 3 a 3 KHz. Posteriormente se digitalizó la señal mediante un convertidor A/D (6024E, National Instruments) usando el Real Time Windows Target en Matlab (MathWorks) con una frecuencia de muestreo de 200 Hz, y por último se almacenaron los datos en una computadora para realizar su análisis fuera de línea.

Los registros de actividad eléctrica cerebral tuvieron una duración de 12 horas divididos en intervalos de 25 minutos.

5.3.2. Animales en interacción

Una vez que se obtuvo el registro conductual y electrofisiológico de cada triada de acociles en condiciones de aislamiento, se preparó a los animales para el registro en interacción.

Un día previo al registro de animales en interacción, el cable de registro de los acociles fue amarrado a la cánula para evitar que los animales se enredaran durante el encuentro agonista. Los acociles fueron colocados en acuarios individuales.

El día en que se llevó a cabo el registro en interacción, a las 7:00 h los miembros de cada triada fueron colocados en una tina común de registro de 40 cm de diámetro. Dentro de la tina los acociles se encontraban separados únicamente por una barrera de plástico la cual se retiraba transcurridos 15 minutos. Se dejaba interactuar a los animales durante 45 minutos más para el establecimiento del orden jerárquico. Después de este tiempo la barrera de plástico permanecía colocada durante todo el registro restante (**Figura 5.2**).



Figura 5.2. Registro conductual y electrofisiológico de triada de acociles en interacción.

Desde que los animales fueron colocados en el acuario común, se grabó la conducta de los acociles durante 12 horas.

De manera simultánea, la señal recogida por los electrodos de cada integrante de la triada fue amplificada y almacenada de la misma forma descrita para animales aislados.

5.4. Análisis de los registros conductuales

Se analizaron las cintas de video relacionando la posición del animal y la hora asociada de tal manera que se obtuvieron gráficas conductuales antes y después de la interacción social. En estas gráficas se consideró la posición en la que se encontraba cada acocil, la hora de inicio y de término de dicha posición y posteriormente se correlacionaron con los datos electrofisiológicos. Adicionalmente se determinó el orden jerárquico de dominancia-sumisión que se establece entre los miembros de la triada; esto puede ser cuantificado de manera

objetiva mediante un conteo de contactos positivos y negativos entre los conoespecíficos (**Delgado-Morales y cols., 2004**).

Se realizó una comparación de los patrones de sueño de los acociles aislados con el que presentan cuando se encuentran en interacción social.

5.5. Análisis de los registros electrofisiológicos

Se analizaron los registros fuera de línea usando algoritmos desarrollados en Matlab. Mediante ellos se realizó un análisis tiempo-frecuencia para identificar la dinámica del sueño de los acociles aislados y compararla con la que presentan en interacción social. El análisis de la actividad eléctrica cerebral se correlacionó con la postura del acocil con el propósito de identificar conductualmente los estados cerebrales encontrados.

Se realizó una comparación de los patrones de sueño de los acociles aislados con el que presentan cuando se encuentran en interacción social.

Parte importante de este trabajo se manifiesta en las técnicas llevadas para el análisis de la actividad eléctrica registrada del cerebro del acocil. Por lo cual se agregó una explicación detallada y su justificación en la sección de resultados.

6. RESULTADOS

6.1. Análisis conductual

Se analizaron los videos considerando la hora de inicio y de término en que ocurría una posición dada y con los datos obtenidos se construyeron gráficas de posición (eje de las ordenadas) contra tiempo (eje de las abscisas).

En un registro de posición (**figura 6.1**), es posible observar que durante el ciclo de 12 horas los integrantes de una triada adoptan cualquiera de las posiciones descritas (**0: parado o caminando, 1: de lado**), y permanecen en ella por periodos prolongados que no dependen de la hora del día.

En condiciones de aislamiento, es posible observar a un animal parado, totalmente inmóvil y sin presentar ninguna transición de posición (**Figura 6.1 A2**).

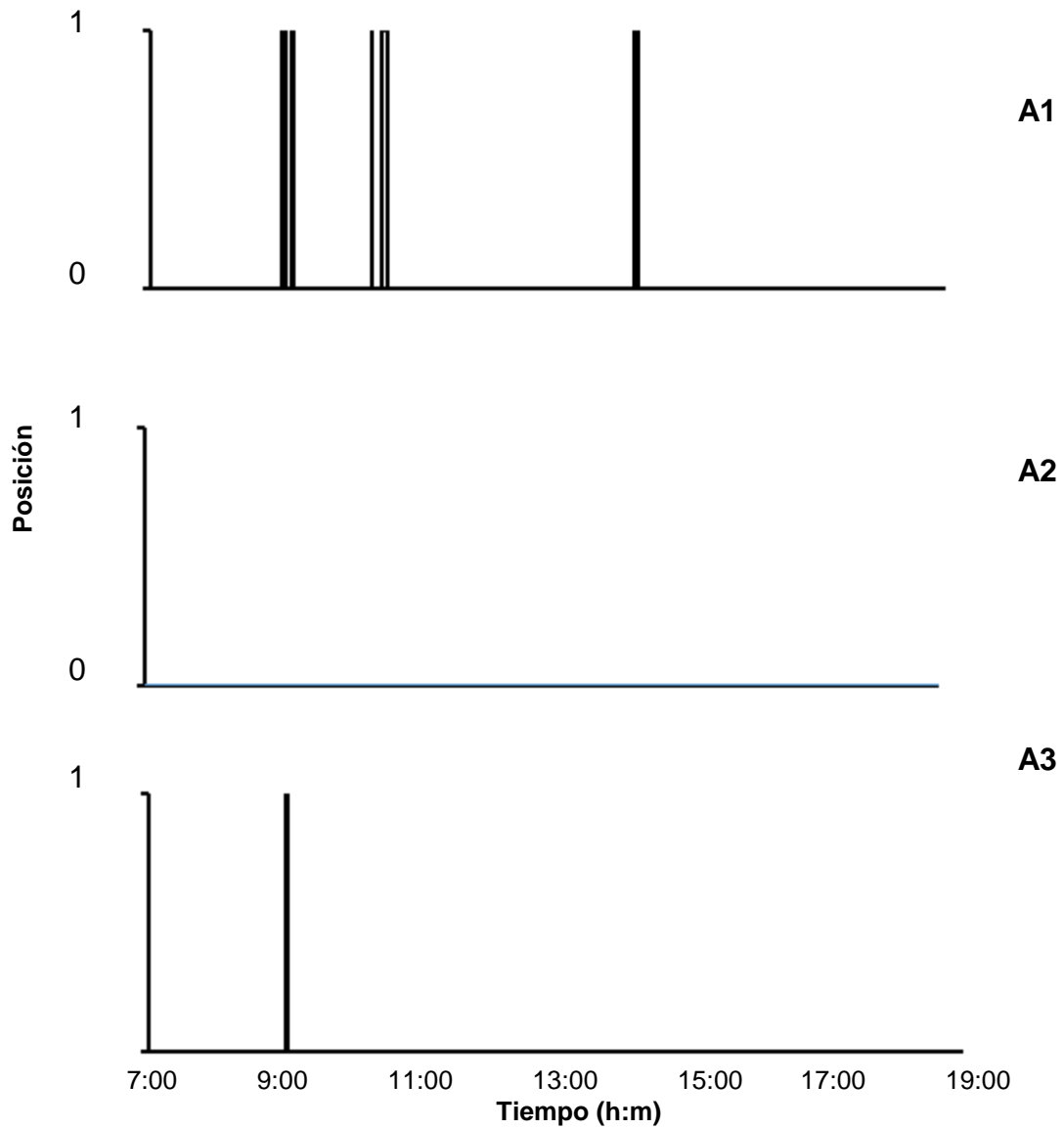


Figura 6.1. Posición de los integrantes de una triada durante 12 horas, condiciones de aislamiento.

A partir de los registros conductuales en interacción se determinó el orden jerárquico de los integrantes de la triada. Después de lo cual se construyeron gráficas de posición (**Figura 6.2.**) usando los mismos criterios que para la condición de aislamiento.

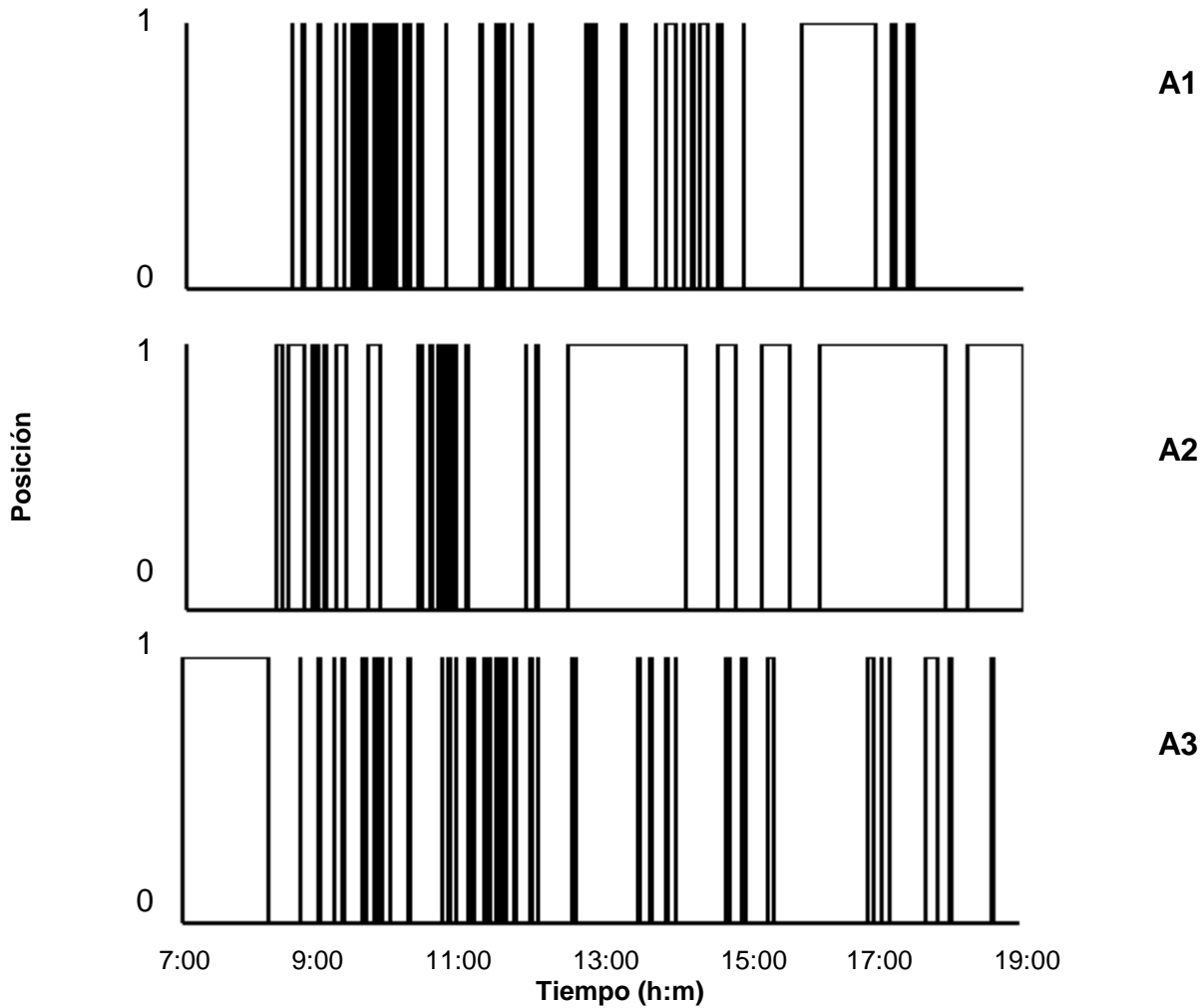


Figura 6.2. Posición de los integrantes de una triada durante 12 horas, condiciones de interacción.
A1) Dominante, A2) Sumiso 1 y A3) Sumiso 2

Como se observa en la figura, cuando los acociles son colocados en interacción social, incrementan los cambios de posición y el tiempo que los individuos duermen, esta dinámica se observó en la mayoría de las triadas registradas.

Es posible observar además que el patrón de sueño de los animales es altamente variable y depende del individuo estudiado (Ver **Anexo 2**).

Para analizar los registros conductuales de todas las triadas en conjunto, se cuantificaron las siguientes variables en condiciones de aislamiento e interacción: a) tiempo total de sueño (**Figura 6.3**), b) número de transiciones de posición (**Figura 6.4**) y c) duración del intervalo de sueño (**Figura 6.5**).

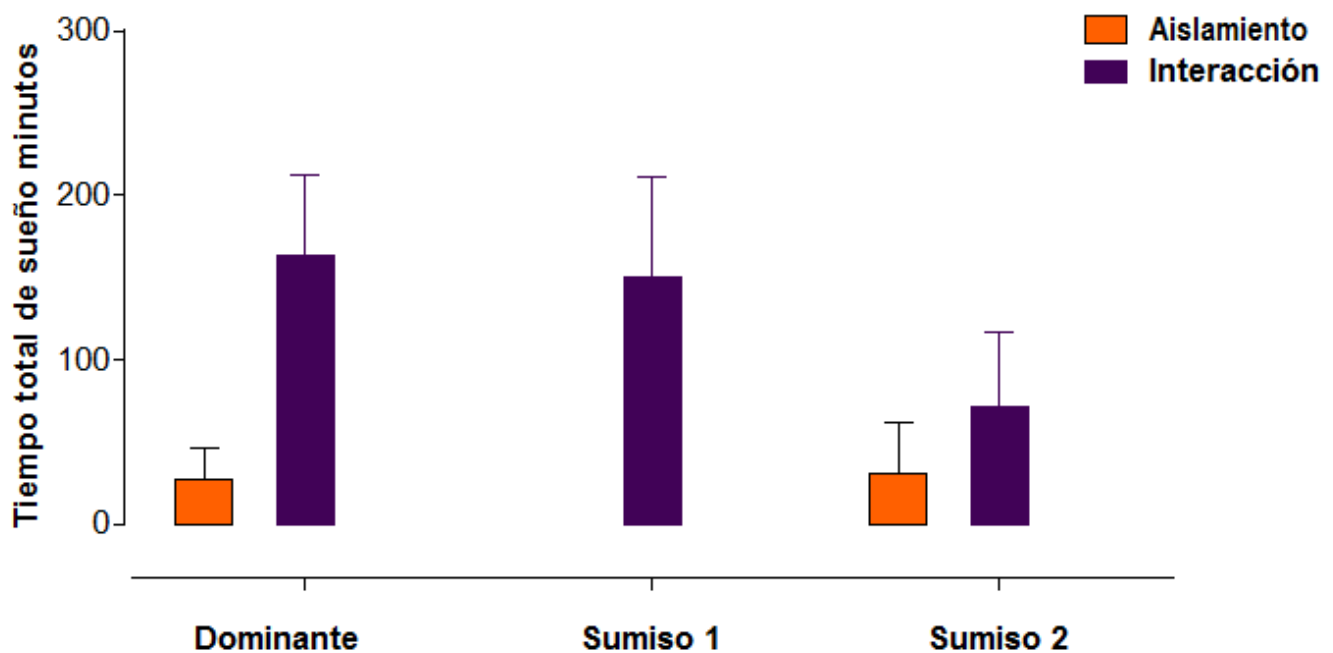


Figura 6.3. Tiempo total de sueño de las triadas (n=5) de acociles.

Como puede observarse, durante la interacción social los patrones de sueño de todos los integrantes de la triada se modifican.

Los acociles tienden a dormir durante más tiempo que en condiciones de aislamiento (**Figura 6.3; Mann-Witney, $p < 0.05$**).

Incrementa el número de transiciones (**Figura 6.4**) y en el caso de los sumisos (S1 y S2) también incrementa la duración de los intervalos de sueño (**Figura 6.5**) mientras que, en los dominantes, este parámetro permanece relativamente constante.

Sin embargo, el análisis global no permite identificar diferencias claras entre los acociles dominantes y sumisos.

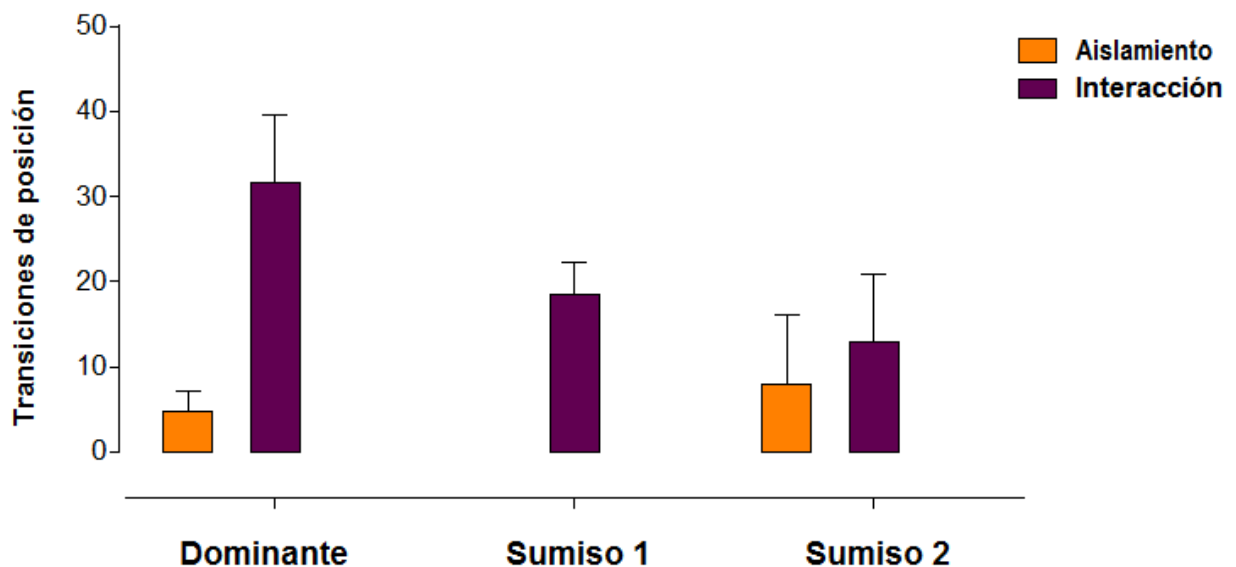


Figura 6.4. Número de transiciones de posición de las triadas (n=5) de acociles.

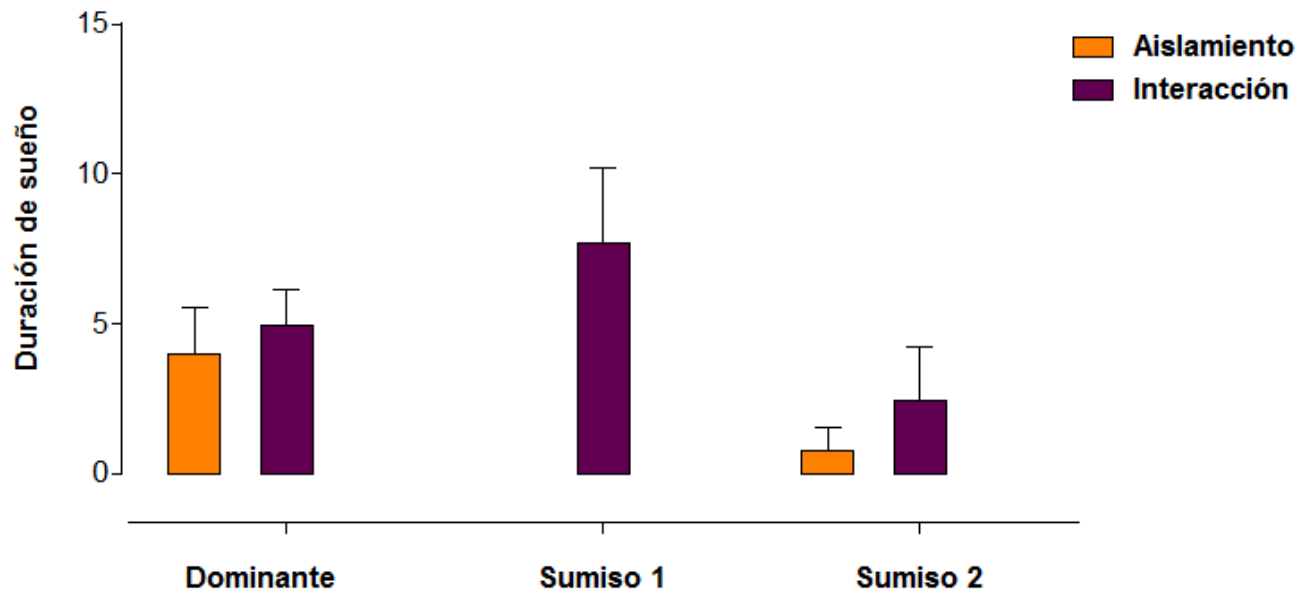


Figura 6.5. Duración del intervalo de sueño de las triadas de acociles (n=5).

6.1.2. Análisis electrofisiológico

La actividad eléctrica que se registró del cerebro del acocil se ajusta a los datos previamente publicados (Ramón y cols., 2004). Está conformada por una gran cantidad de espigas montadas sobre una basal plana con frecuencias alrededor de los 300 Hz. Cuando el acocil se coloca en posición de lado, esta actividad eléctrica se modifica, aparecen ondas lentas con frecuencias en el rango de los 15 a 20 Hz, es decir, el acocil duerme.

La (Figura 6.6) muestra el registro eléctrico cerebral obtenido de los integrantes de una triada. Como puede observarse, cuando los acociles están dormidos, incrementa la actividad lenta, sin embargo poco se puede concluir del registro crudo.

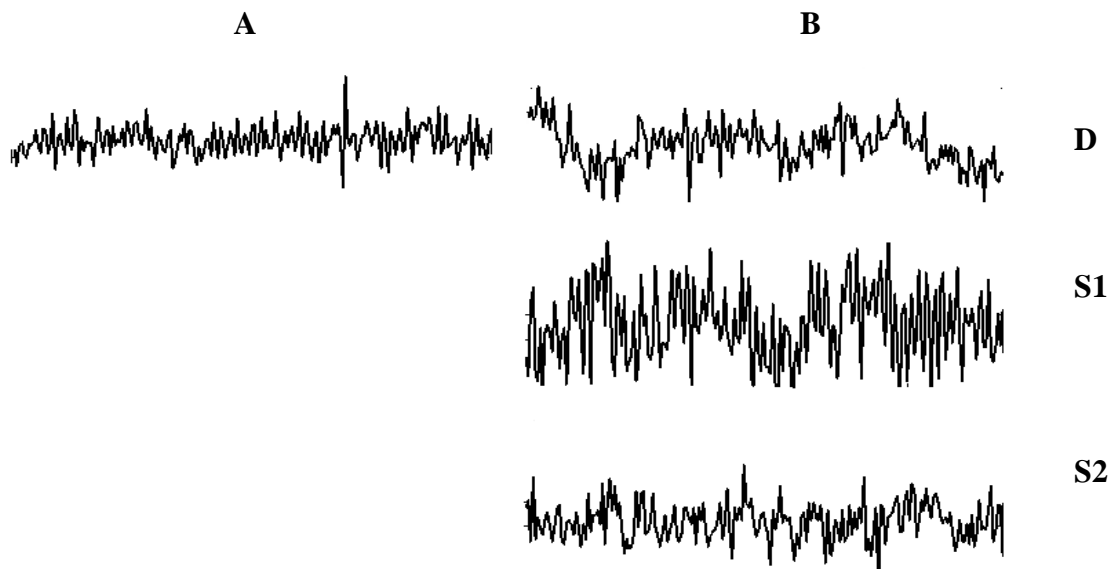


Figura 6.6. Actividad eléctrica cerebral de los acociles de una triada. A) Despiertos. B) Dormidos. D= dominante, S1= Sumiso 1, S2=Sumiso 2.

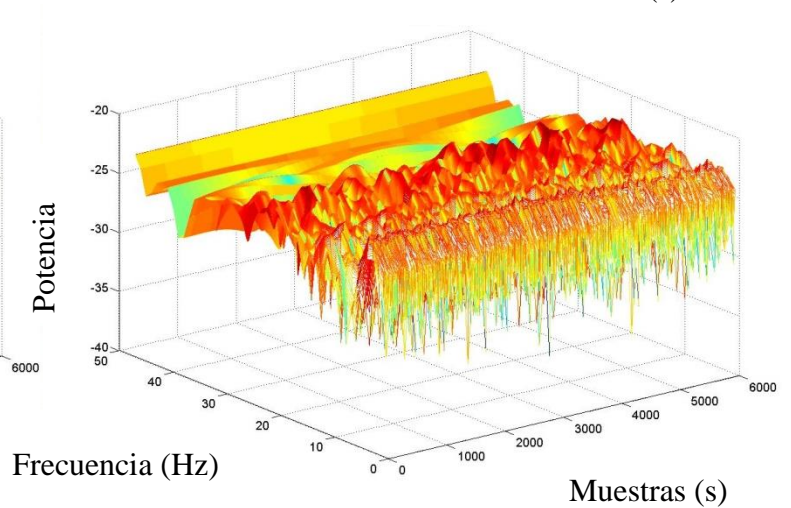
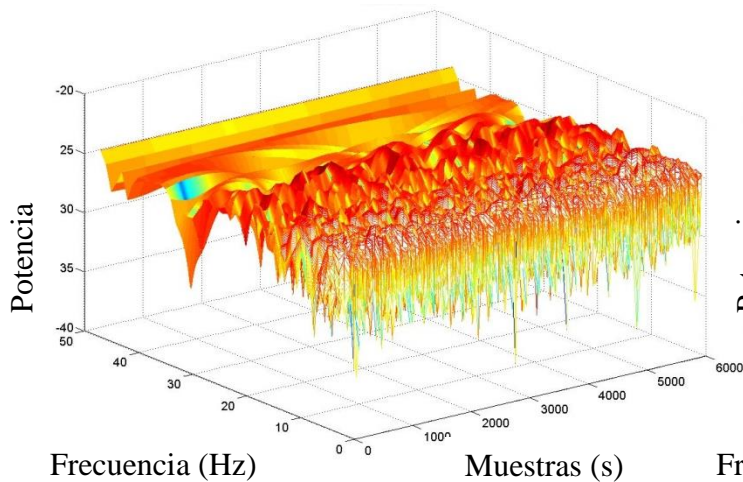
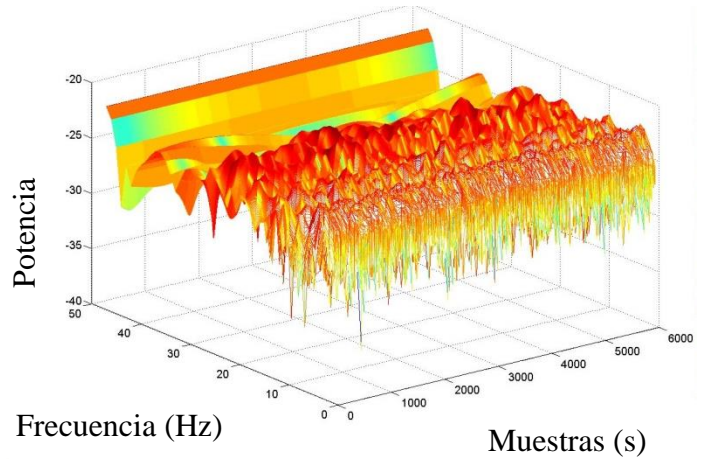
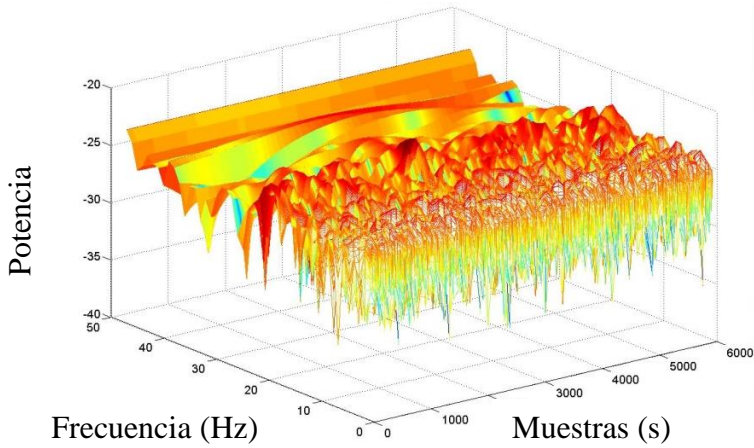
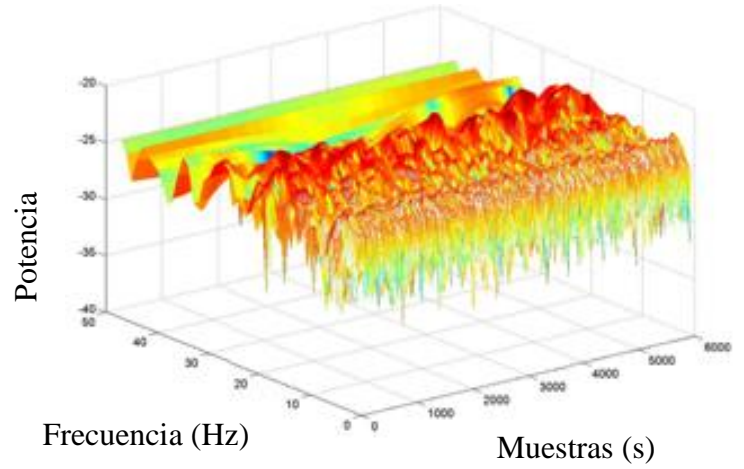
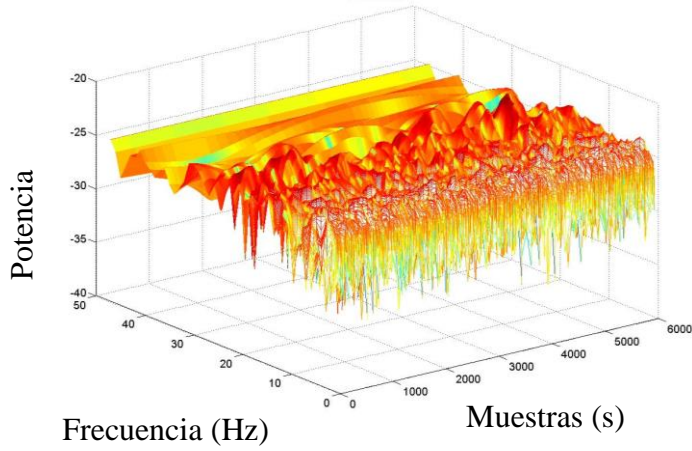
En la gráfica anterior, no fueron colocadas señales eléctricas del cerebro de los acociles sumiso en posición de lado, debido a que durante el aislamiento los animales no adquirieron dicha posición.

Del análisis con TW se obtuvieron gráficas tridimensionales para cada integrante de la triada en ambas condiciones, aislamiento e interacción, estas gráficas incluyen tiempo, frecuencia (únicamente la banda de 0-60 Hz) y potencia (codificada en color usando el espectro de luz visible). En el caso de los sumisos, en la triada que se muestra a continuación únicamente adquirió la posición de lado el acocil sumiso 1 y en condiciones de interacción social.

La transformada wavelet (**Figura 6.7**) muestra que los acociles dominantes presentan valores en potencia más bajos que los acociles sumisos cuando duermen en el mismo acuario.

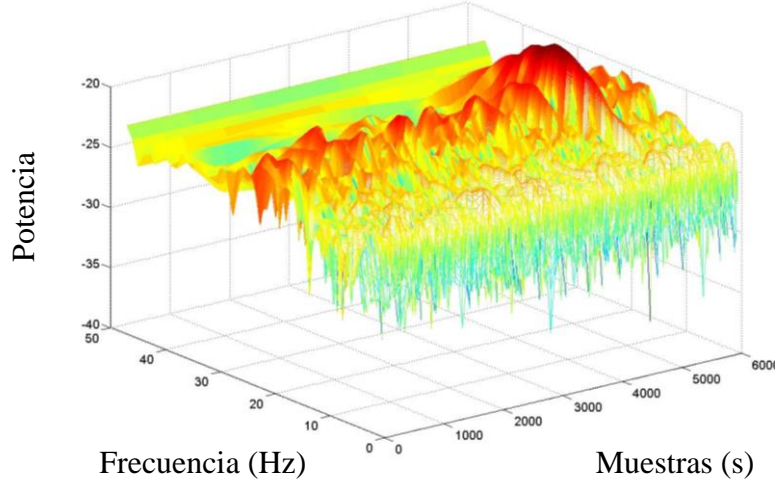
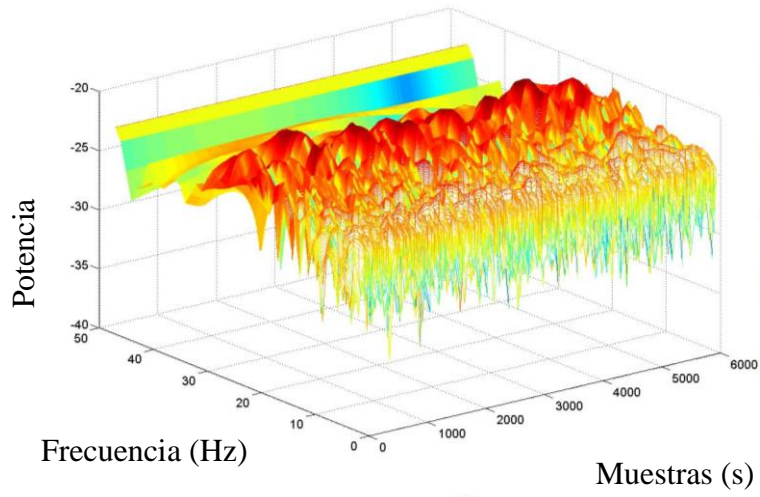
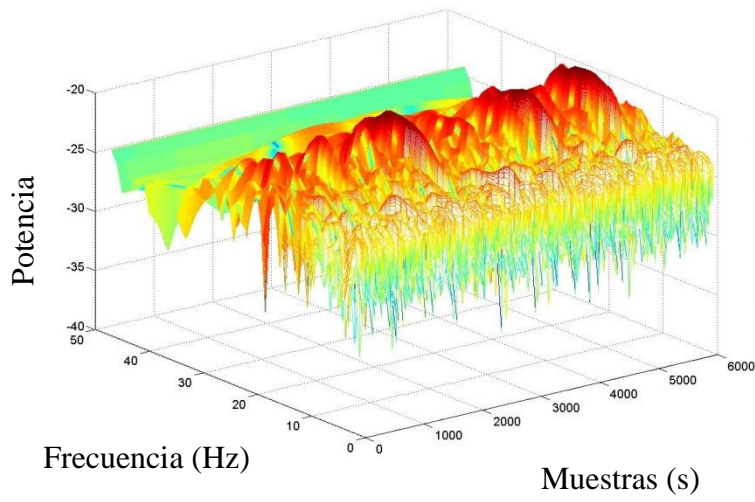
Aislamiento

Interacción social



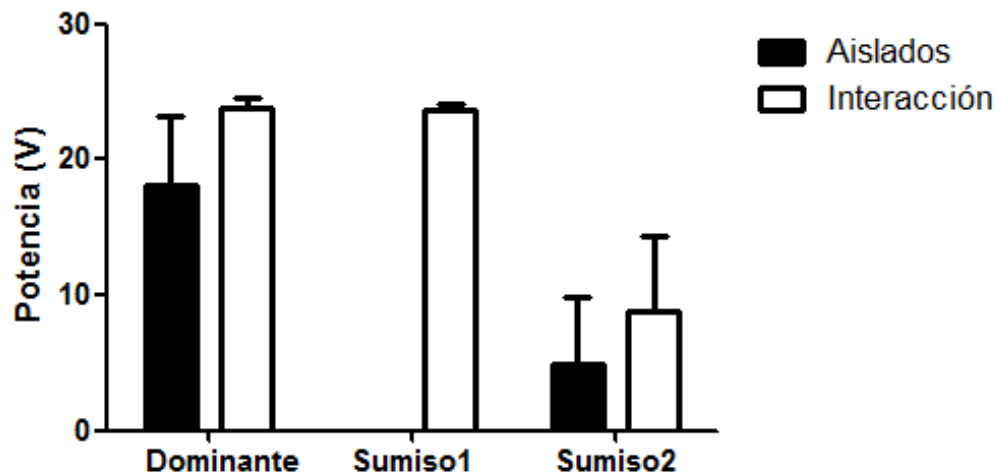
6.7. Gráficas tridimensionales de la TW de la actividad eléctrica de deutocerebro correspondientes a la posición de lado en el acocil dominante, cada gráfica representa 30s continuos de sueño.

Interacción social



6.8. Gráficas tridimensionales de la TW de la actividad eléctrica de deutocerebro correspondientes a la posición de lado en el acocil sumiso 1, cada gráfica representa 30s continuos de sueño.

Para analizar los registros de la actividad eléctrica de todas las triadas en conjunto, se consideraron los valores de potencia en condiciones de aislamiento e interacción (**Figura 6.9.**).



6.9. Valores de potencia obtenidos de la actividad eléctrica cerebral de las triadas registradas (n=5), potencia representada en valores absolutos.

Los datos empleados en la realización de la gráfica 6.9. representan valores absolutos.

Como puede observarse, durante la interacción social, tanto para los acociles dominantes como para los sumisos se registran potencias menores.

Los resultados se ajustan a las observaciones descritas en las gráficas tridimensionales de la TW. Los acociles dominantes presentan una menor disminución en potencia durante la interacción social en comparación con los animales sumisos (S1 y S2).

7. CONCLUSIONES

Los estudios realizados hasta el momento indican que el sueño del acocil se modifica dependiendo de las condiciones ambientales. Las interacciones sociales son factores que determinan cambios en los patrones de sueño.

Si definimos eficiencia de sueño tal como se hace en los vertebrados, es decir, sueño de mayor duración y con potencias elevadas en el rango de las ondas lentas, y disminuidas en el rango de frecuencias que indican procesamiento de información, es posible afirmar que los acociles dominantes tienen mayor eficiencia de sueño que los sumisos.

Estos hallazgos en conjunto, sugieren, que la dominancia está asociada con una gran habilidad para adaptarse incluso en funciones complejas como el sueño.

8. Trabajo a Futuro

El trabajo a futuro se puede enfocar en tres rubros principales a saber:

a) Temporalidad de los fenómenos registrados. Es decir, durante cuánto tiempo persiste el cambio en los patrones de sueño, conductuales y eléctricos, en los acociles que establecieron una jerarquía de dominancia – sumisión.

El establecimiento de una jerarquía de este tipo implica un proceso de aprendizaje – memoria. Trabajos realizados en el laboratorio muestran que esta memoria se mantiene por periodos prolongados. Es decir, la memoria asociada con el estatus jerárquico induce cambios en la duración de sueño, lo que va en la misma línea que la descrita para especies como la rata. Una línea de trabajo que se abre consiste en explorar los intervalos necesarios para tener un animal “neutro”, es decir que no tenga un estatus social, si existen diferencias temporales entre el dominante (efecto ganador) y los sumisos (efecto perdedor).

b) Determinación del resultado de un encuentro agonista. ¿Es posible anticipar el resultado de un encuentro agonista en una triada de acociles a partir del patrón de sueño, conductual y electrofisiológico? Cuando a los integrantes de una triada de acociles, que son desconocidos entre sí, se les permite interactuar y establecer un orden jerárquico, no se puede anticipar el resultado de los encuentros agonistas. Como los patrones de sueño cambian después de establecida la jerarquía, resulta interesante buscar alguna característica en la actividad eléctrica, en la conducta de sueño, o en ambas, que permita anticipar el resultado de la interacción agonista. Es decir, determinar si existen patrones de sueño asociados a un ganador o un perdedor.

c) Efecto ganador. Cuando un acocil dominante se enfrenta a acociles desconocidos, del mismo tamaño, tiene grandes probabilidades de resultar ganador en un nuevo encuentro; lo opuesto ocurre en un acocil sumiso. Esto se ha llamado “efecto ganador” y “efecto perdedor”. Cabe preguntarse e investigar si los patrones de sueño (conductual o electrofisiológico) del dominante se mantienen, se refuerzan o se desvanecen dependiendo del nuevo estatus que adquiera. Solamente un análisis más fino de las señales eléctricas y los cambios conductuales podrá dar respuesta a estos problemas.

9. REFERENCIAS

1. Aldrich M. 1999, Sleep Medicine. Oxford University Press.
2. Akay M. 1995, Wavelets in Biomedical Engineering, *Ann. Niomed. Eng.*, **23**:531-542.
3. Ayala-Guerrero F y LV Reyna. 1987, Sleep and wakefulness in the lizard *Ctenosaura similis*. *Estud Med Biol Mex*, 35:25-33.
4. Ayala-Guerrero F y Huitrón-Reséndiz S. 1991, Behavioral and electrophysiological patterns of wakefulness-sleep states in a lizard. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.*, 39:9-14.
5. Delgado-Morales G, Hernández-Falcón J, Ramón F. 2004, Agonistic behavior in crayfish: The importance of sensory inputs. *Crustaceana*. **77**:1-24.
6. Flanigan WF, Knight CP, Hartse KM, Rechtschaffen A. 1974, Sleep and wakefulness in chelonian reptiles. I. the box turtle, *Terrapene Carolina*. *Arch Ital Biol* **112**(3):227-252.
7. Graves L, A Pack, T Abel. 2001, Sleep and memory: A molecular perspective. *Trends Neurosci*. 24:237–243.
8. Greenspan RJ, G Tononi, C Cirelli, PJ Shaw. 2001, Sleep and the fruit fly. *Trends Neurosci*. 24:142-145.
9. Hendricks JC, SM Finn, KA Panckeri, J Chavkin, JA Williams, A Shegal y AI Pack. 2000, Rest in *Drosophila* is a sleep-like state. *Neuron*25, 129-138.
10. Hernández OH, Serrato J, Ramón F. 1996, Chronic recording of electrical activity from the brain of unrestrained crayfish: The basal, unstimulated activity. *Comp Biochem Physiol* **114**(3):219-226.
11. Hernández-Falcón J, Serrato J, Ramón F. 1999, Evoked potentials elicited by natural stimuli in the brain of unanesthetized crayfish. *Physiol Behav* **66**(3):397-407.
12. Hornung OP, F Regen, H Danker-Hopfe, M Schredl y I Heuser. 2007, The relationship between REM sleep and memory consolidation in old age and effects of cholinergic medication. *Biol. Psychiatry* 61:750–757.
13. Kaiser WJ. 1988 Busy bees need rest too. *Comp. Physiol. A*, 163: 565-584.

14. Klein BA, AG Gibbs, KMF Larsen. 2003, Signatures of sleep in the paper wasp *Polistes flavus*. *Ent. Soc. Amer.* 104:64.
15. Kravitz EA. 2000, Serotonin and aggression: insights gained from a lobster model system and speculations on the role of amine neurons in a complex behavior. *J. Comp. Physiol.* **186**:221-238.
16. Krueger JM, JF Obal, J Fang. 1999, Why we sleep?: a theoretical view of sleep function. *Sleep Med Rev.* 3:119-29.
17. Krueger JM, JF Obal. 2003, Sleep function, *Front Biosci.*, 8:511-519.
18. Mendoza-Angeles K, Cabrera A, Hernández-Falcón J, Ramón F. 2007, Slow waves during sleep in crayfish: A time-frequency analysis. *J Neurosci Meth* **162**(1-2):264-271.
19. Mendoza-Angeles K, Hernández-Falcón J, Ramón F. 2010, Slow waves during sleep in crayfish. Origin and spread. *J Exp Biol* **213**(12), 2154-2164.+
20. Mignot, E. (2008), Why we sleep: The temporal organization of recovery. *PLoS Biology*, **6**(4): 661-669
21. Muzur A. 2005, Toward an integrative theory of sleep and dreaming. *J. Theor. Biol.*, 233:103–118.
22. Ramón F, Hernández-Falcón J, Nguyen B, Bullock TH. 2004, Slow wave sleep in crayfish. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**(32):11857-11861.
23. Rasch B, Born J. 2013, About Sleep's Role in Memory. *Physiol Rev* **93**: 681–766.
24. Roffwarg H, JN Muzio, WC Dement. 1966, Ontogenetic Development of Human Sleep-Dream Cycle, *Science*, 152:604-619.
25. Sauer S, M Kinkelin, E Herrmann, W Kaiser. 2003, The dynamics of sleep-like behaviour in honey bees. *J. Comp. Physiol. A. Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.*, 189(8):599-607.
26. Sandeman D, R Sandeman, C Derby, y M Schmidt. 1992, Morphology of the brain of crayfish, crabs and spiny lobster: a common nomenclature for homologous structures. *Biological Bulletin.* **183**:304-326.
27. Schabus M. et al. 2004, Sleep spindles and their significance for declarative memory consolidation. *Sleep* 27:1479–1485.

28. Shaw PJ, Cirelli R, Greenspan G, Tononi G. 2000, Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science* 287:1834-1837.
29. Shaw PJ, Franken P. 2003, Perchance to dream: Solving the mystery of sleep through genetic analysis. *J. Neurobiol.* 54:179-202.
30. Siegel JM. 2005, Clues to the functions of mammalian sleep. *Nature.* 437:1264-1271
31. Sterpenich V et al. 2009, Sleep promotes the neural reorganization of remote emotional memory. *J. Neurosci.* 29:5143–5152.
32. Tobler I, y JJ Stalder. 1988, Rest in the scorpion - a sleep-like state. *J. Comp. Physiol.* 163:227-235.
33. Wittenberger, James F. 1981, *Animal social behavior*, Wadsworth, Inc., Belmont, California.

10. ANEXOS

Anexo 1.

Consideraciones éticas

Durante todos los implantes quirúrgicos de este proyecto, los acociles fueron implantados después de ser anestesiados por frío, que es el método común para reducir el metabolismo y evitar así los posibles sufrimientos de estos animales.

El método de anestesia por frío consiste en mantener a los animales aproximadamente entre 40 y 50 minutos en agua a 0°C. Esto provoca pérdida de las respuestas sensoriales de tipo mecánico, visual o químico. Además, este tipo de anestesia incrementa la viscosidad de la hemolinfa por lo que el sangrado se reduce.

Los procedimientos mencionados han sido aprobados por las Comisiones de Investigación y Ética de la División de Investigación de la Facultad de Medicina, UNAM con número de Dictamen 048/2015 a través del oficio FMED/CI/SPLR/056/2015



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN
COMISIONES DE INVESTIGACIÓN Y DE ÉTICA
OFICIO NO. FMED/CI/SPLR/056/2015

ASUNTO: Dictamen proyecto 048/2015

Dra. Karina Mendoza Ángeles
Profesor Asociado "C" TC
Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina, UNAM
Presente.

Estimada doctora Mendoza Ángeles:

Me complace informarle que su proyecto número 048/2015 "Estudio del sueño en el acocil: Papel de las entradas sensoriales en la sincronización de la actividad eléctrica cerebral" ha sido APROBADO por las Comisiones de Investigación y Ética de esta Facultad de Medicina, en su sesión ordinaria de fecha 07 de abril de 2015, con vigencia de 3 años a partir de la fecha de aprobación.

Para conocer el seguimiento de esta investigación, es necesario que entregue un informe anual, en la División de Investigación de esta Facultad, tomando en cuenta esta fecha de elaboración del dictamen.

Asimismo, le solicitamos atentamente nos envíe una copia del o los artículos y/o copia de la carátula y resumen de las tesis que pudieran generarse relacionadas con el proyecto.

Sin otro particular de momento, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D.F., a 07 de abril de 2015.

EL SECRETARIO TÉCNICO

DR. SAMUEL PONCE DE LEÓN ROSALES

*SPLR/SCM/ETF 'bap

Anexo 2.

Registros conductuales en condiciones de aislamiento y en interacción social.

Los registros conductuales tuvieron una duración de 12 horas, tanto en condiciones de aislamiento como en interacción social. Se registró un total de triadas $n=5$. Los registros fueron iniciados a las 7:00 a.m. y finalizados a las 19:00 p.m.

Se analizaron los videos considerando la hora de inicio y de término en que los acociles adquirían la posición de lado (estereotípica de sueño) y con los datos obtenidos se construyeron gráficas de posición contra tiempo antes y durante la interacción social.

En los registros obtenidos, los acociles en condiciones de aislamiento o en interacción, no siempre adoptaron la posición de lado a lo largo de las 12 horas de registro.

A continuación se muestran los resultados conductuales obtenidos de cada una de las triadas de acociles tanto en aislamiento como en interacción social.

Para cada una de las gráficas mostradas abajo le denominamos **0** al acocil parado o caminando y **1** cuando el acocil adquiere la posición de lado.

Triada 1.

Patrón de sueño de acociles en aislamiento.

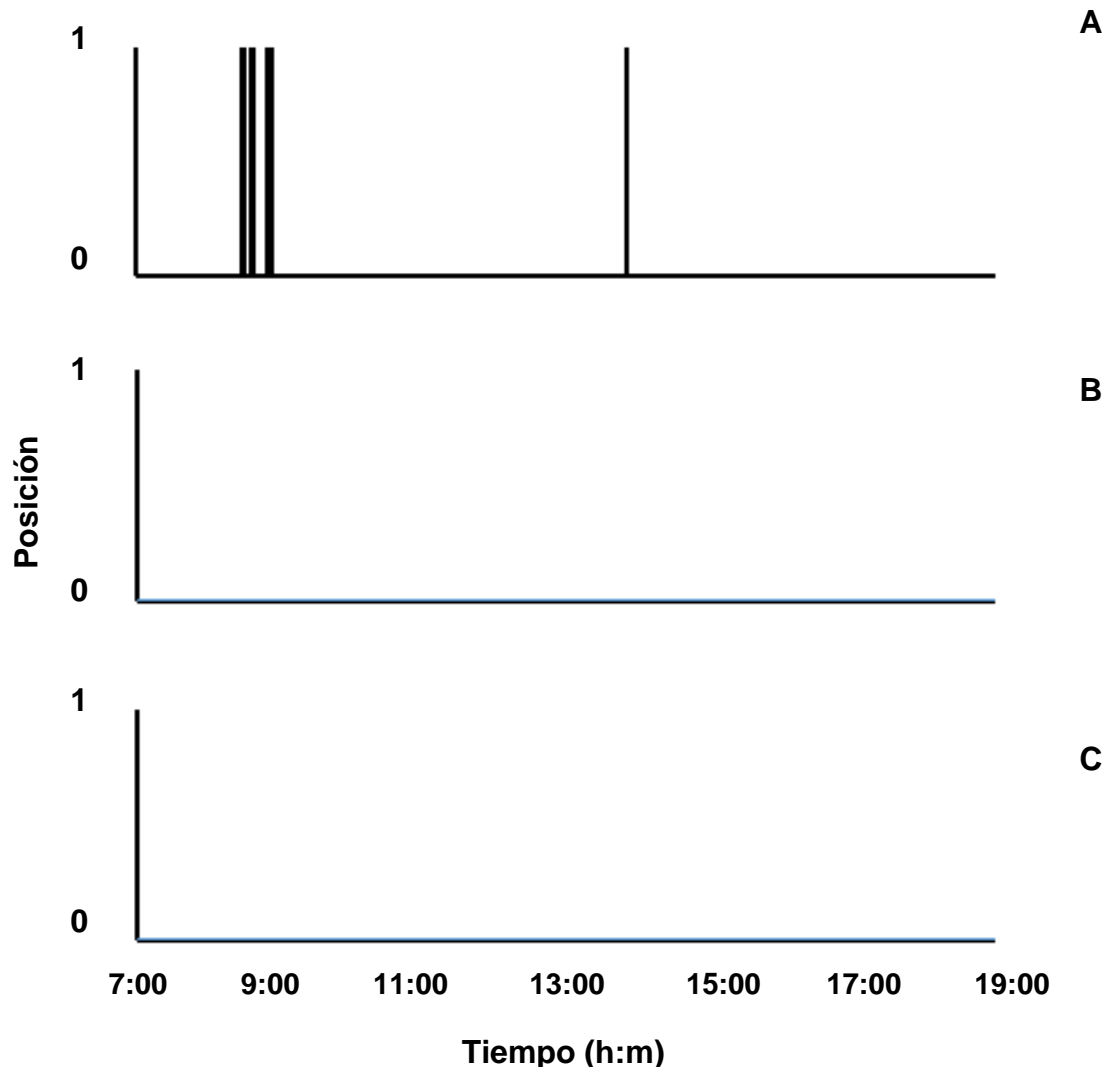


Figura 10.1. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 1, condiciones de aislamiento, A) Acocil 1, B) Acocil 2 y C) Acocil 3.

Triada 1.

Patrón de sueño de acociles en interacción social.

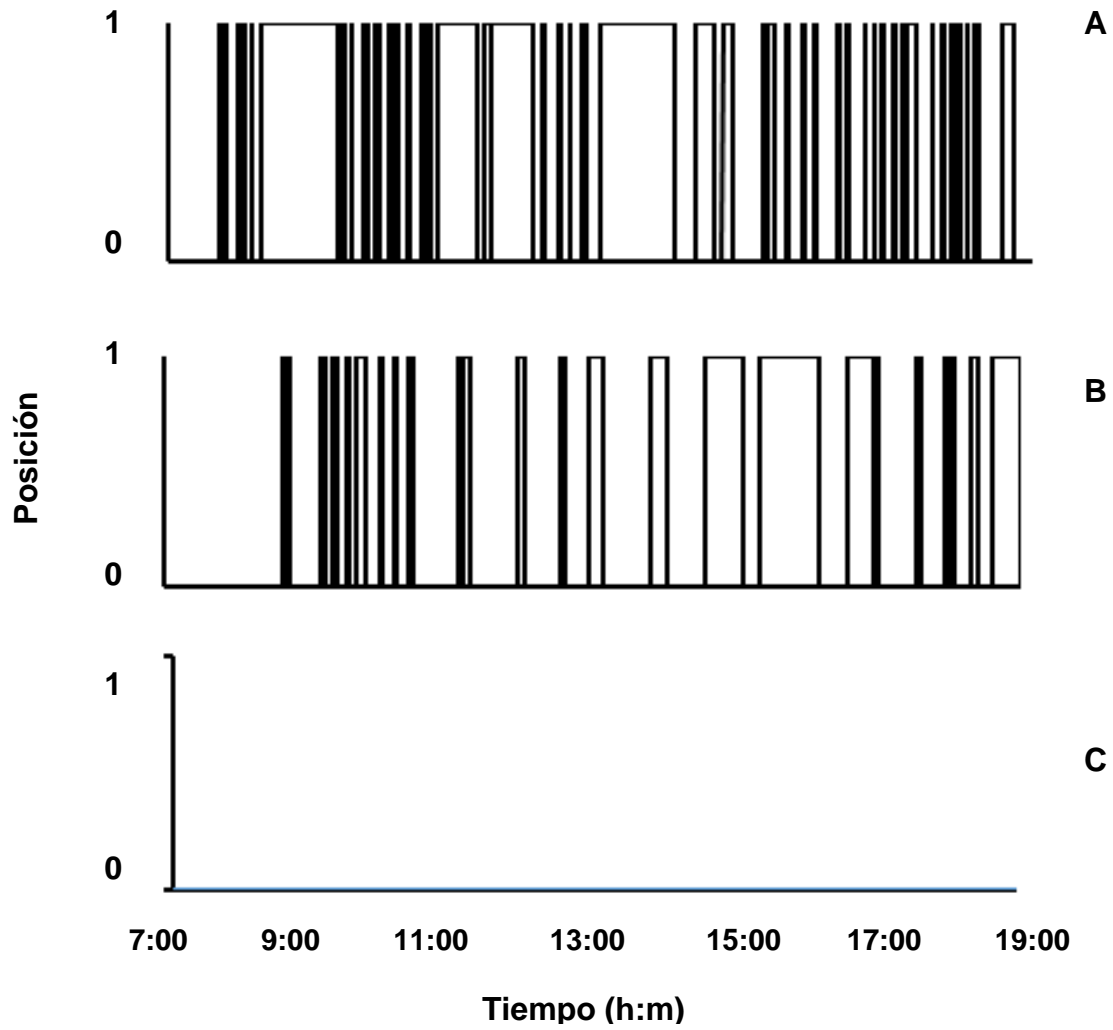


Figura 10.2. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 1, durante la interacción social, A) Dominante, B) Sumiso 1 y C) Sumiso 2.

Triada 2.

Patrón de sueño de acociles en aislamiento.

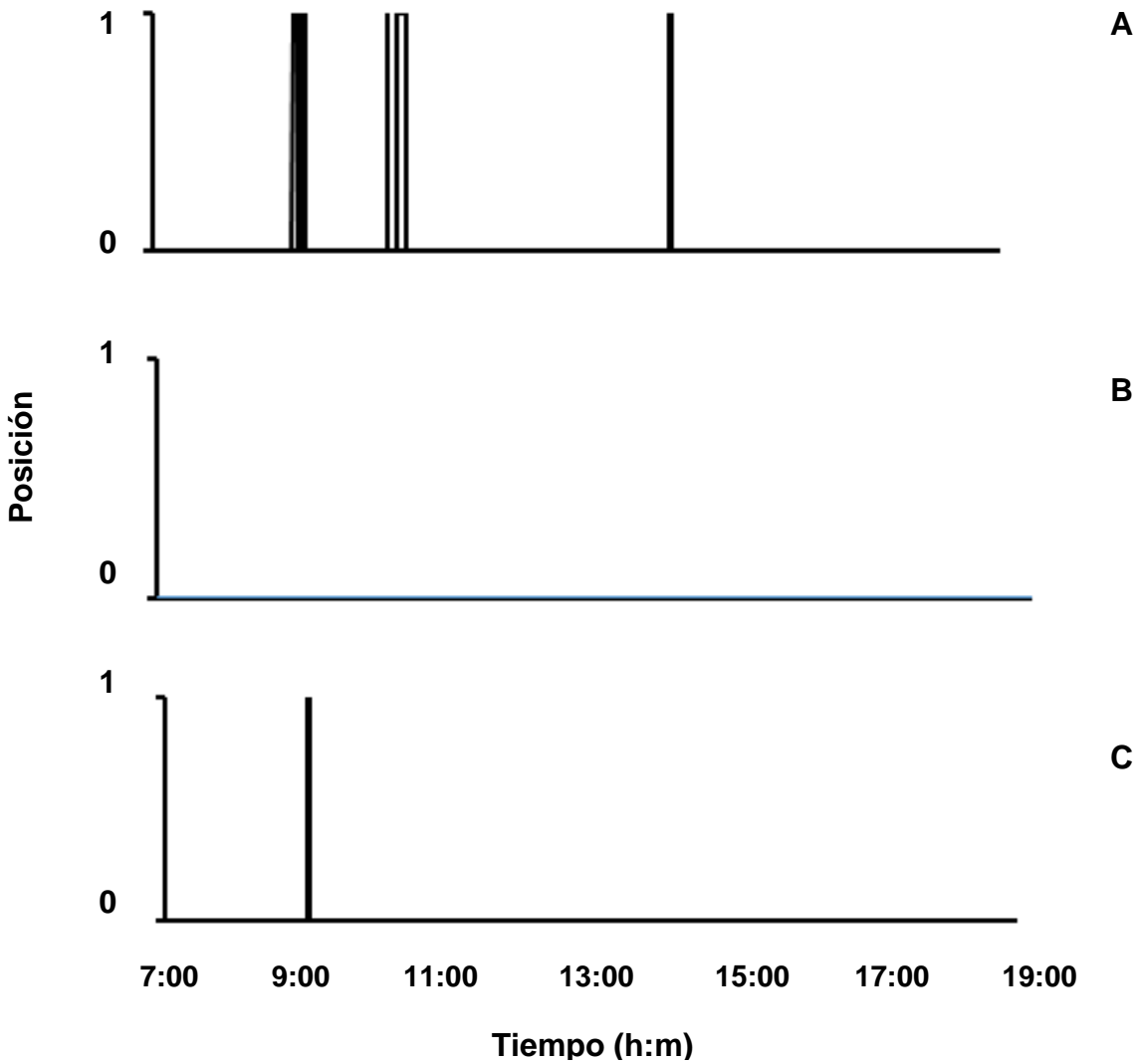


Figura 10.3. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 2, condiciones de aislamiento, A) Acocil 1, B) Acocil 2 y C) Acocil 3.

Triada 2.

Patrón de sueño de acociles en interacción social.

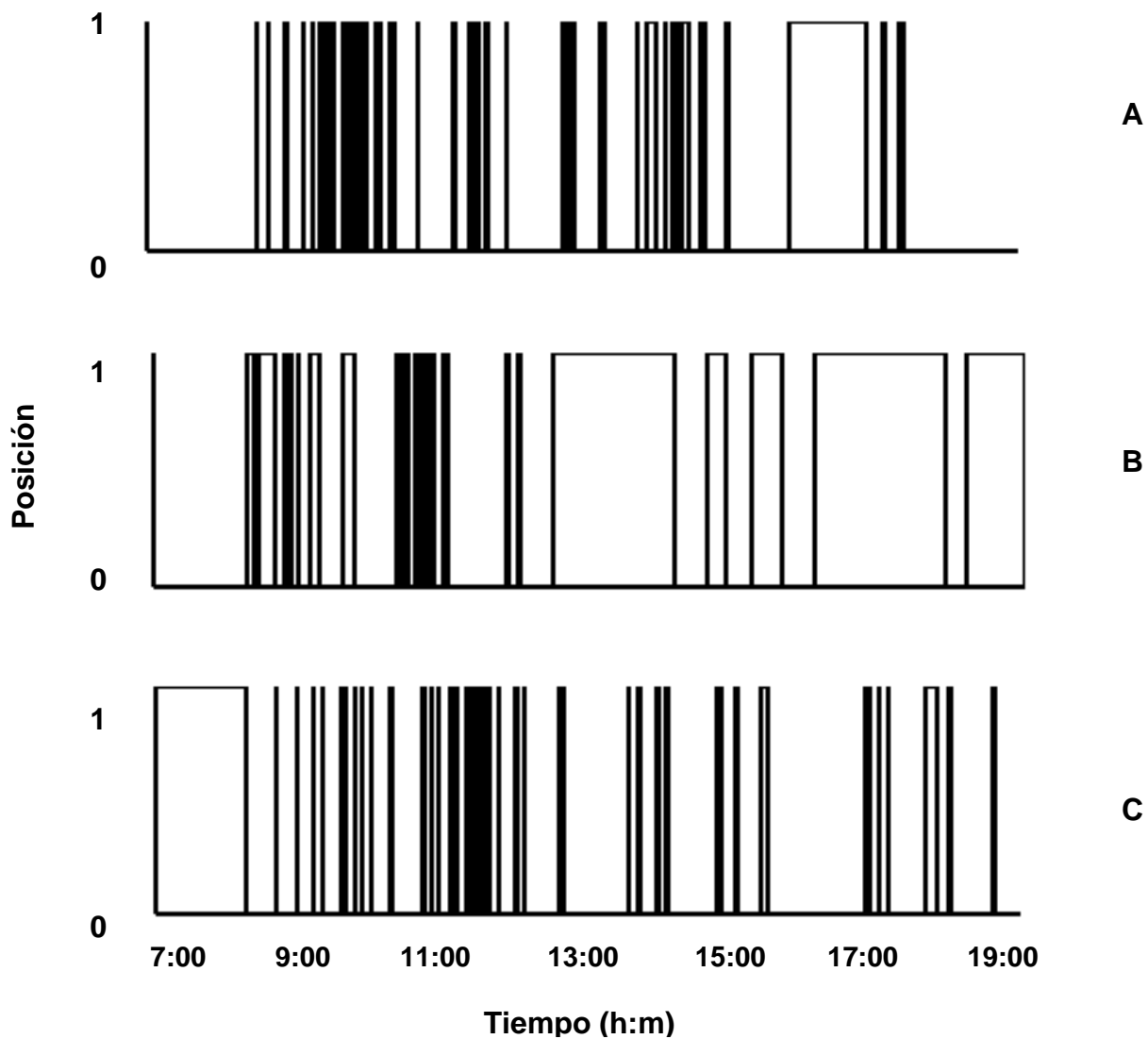


Figura 10.4. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 2, durante la interacción social, A) Dominante, B) Sumiso 1 y C) Sumiso 2.

Triada 3.

Patrón de sueño de acociles en aislamiento.

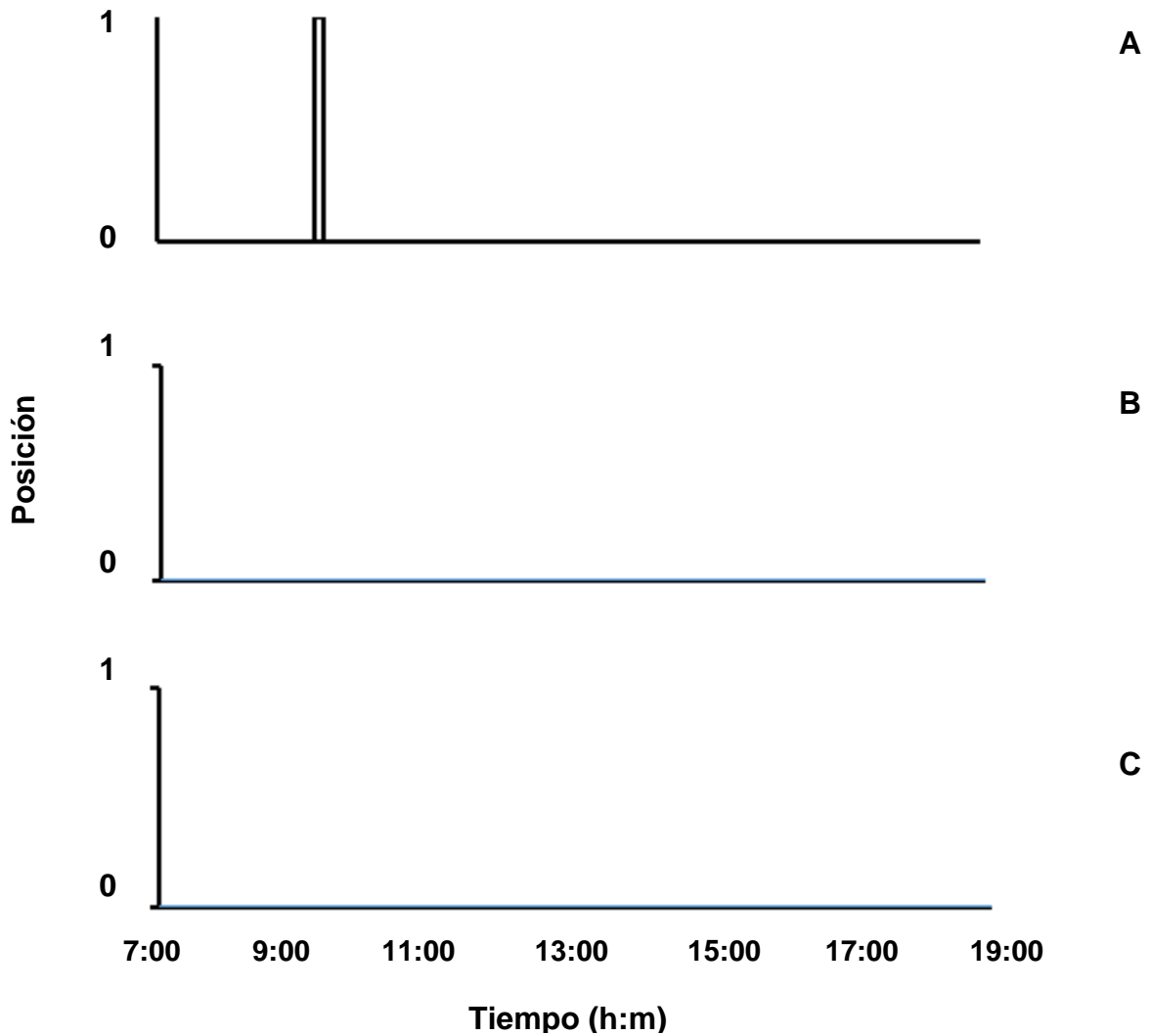


Figura 10.5. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 3, condiciones de aislamiento, A) Acocil 1, B) Acocil 2 y C) Acocil 3.

Triada 3.

Patrón de sueño de acociles en interacción social.

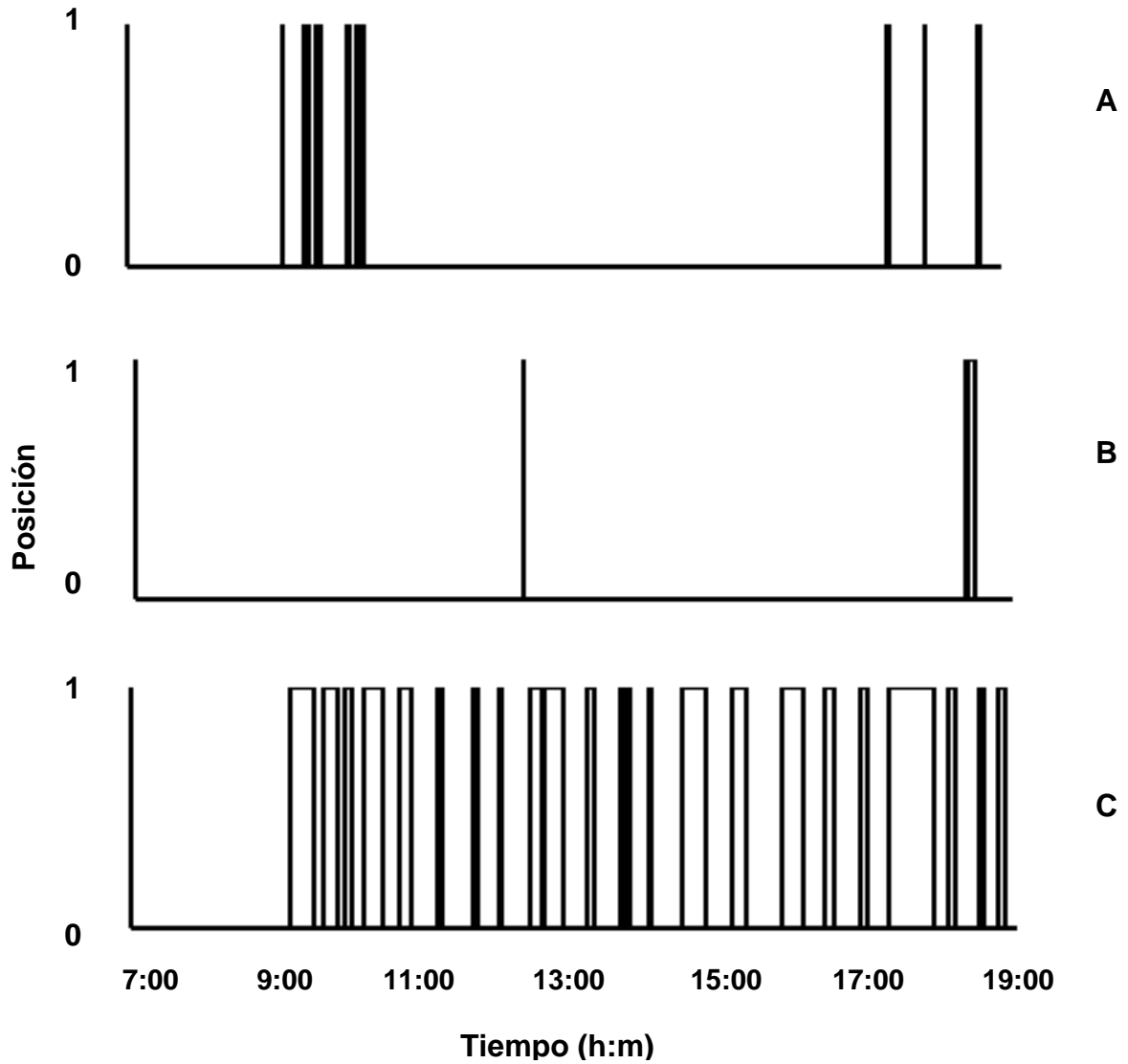


Figura 10.6. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 3, durante la interacción social, A) Dominante, B) Sumiso 1 y C) Sumiso 2.

Triada 4.

Patrón de sueño de acociles en aislamiento.

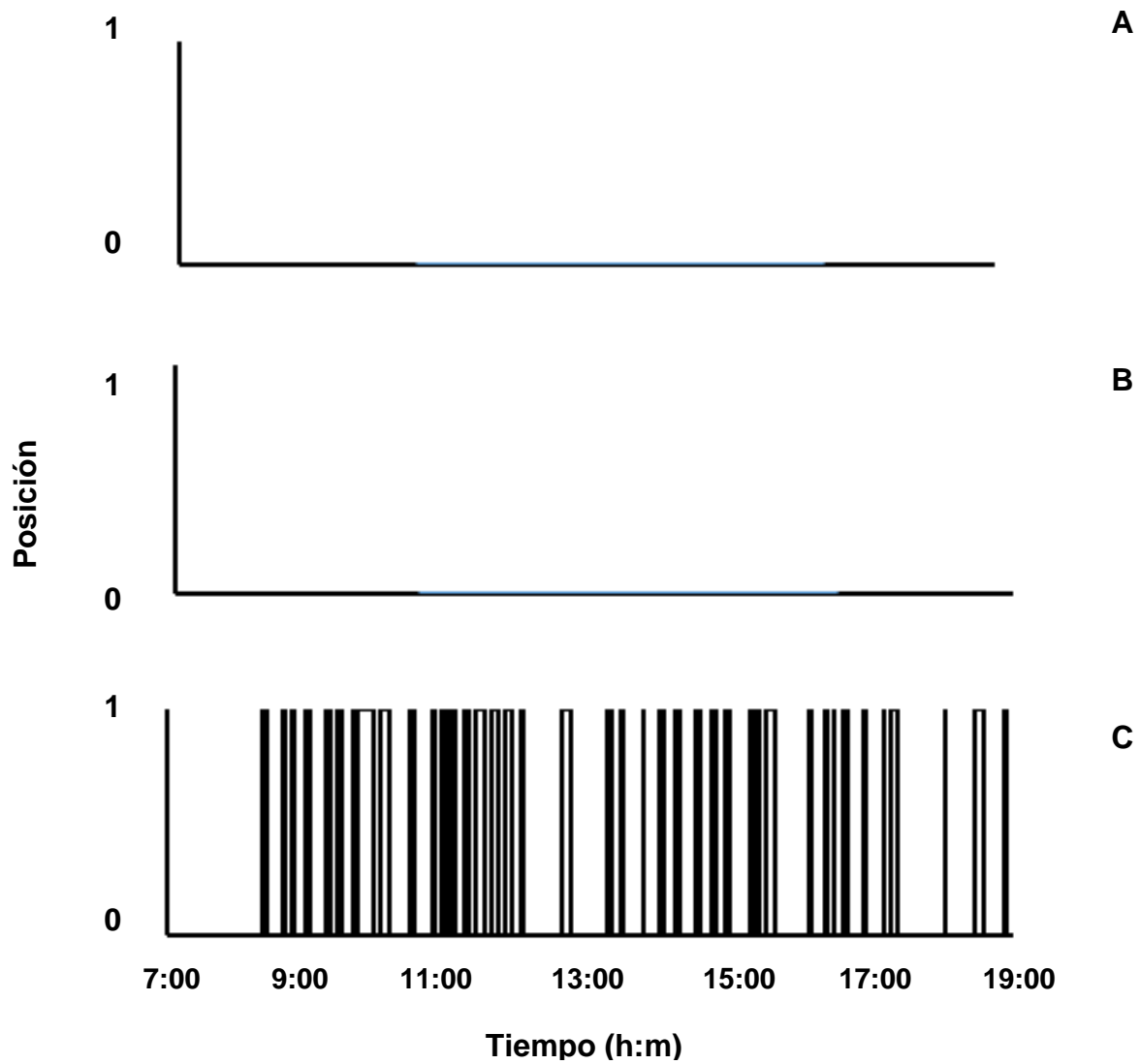


Figura 10.7. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 4, condiciones de aislamiento, A) Acocil 1, B) Acocil 2 y C) Acocil 3.

Triada 4.

Patrón de sueño de acociles en interacción social.

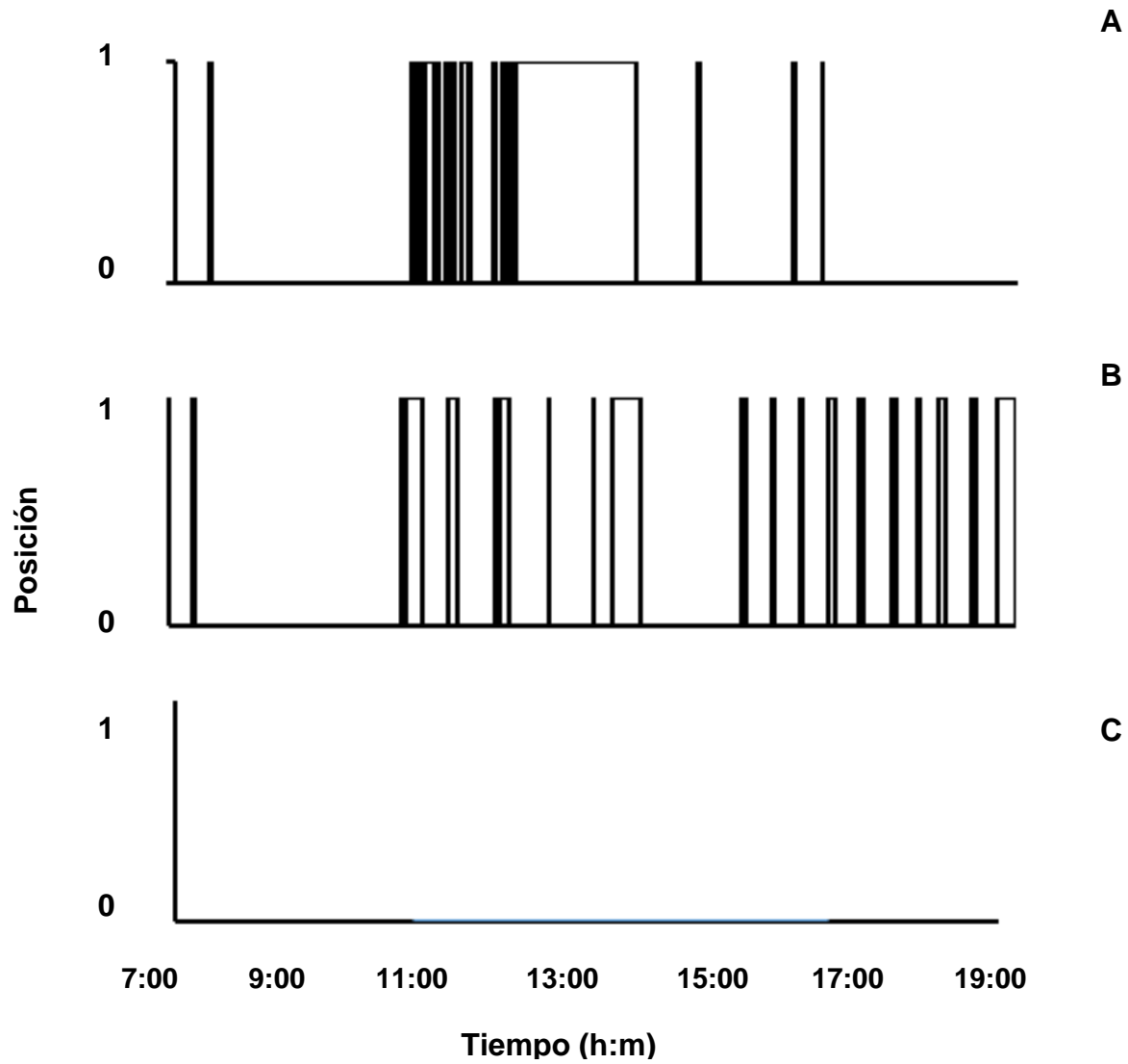


Figura 10.8. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 4, durante la interacción social, A) Dominante, B) Sumiso 1 y C) Sumiso 2.

Triada 5.

Patrón de sueño de acociles en aislamiento.

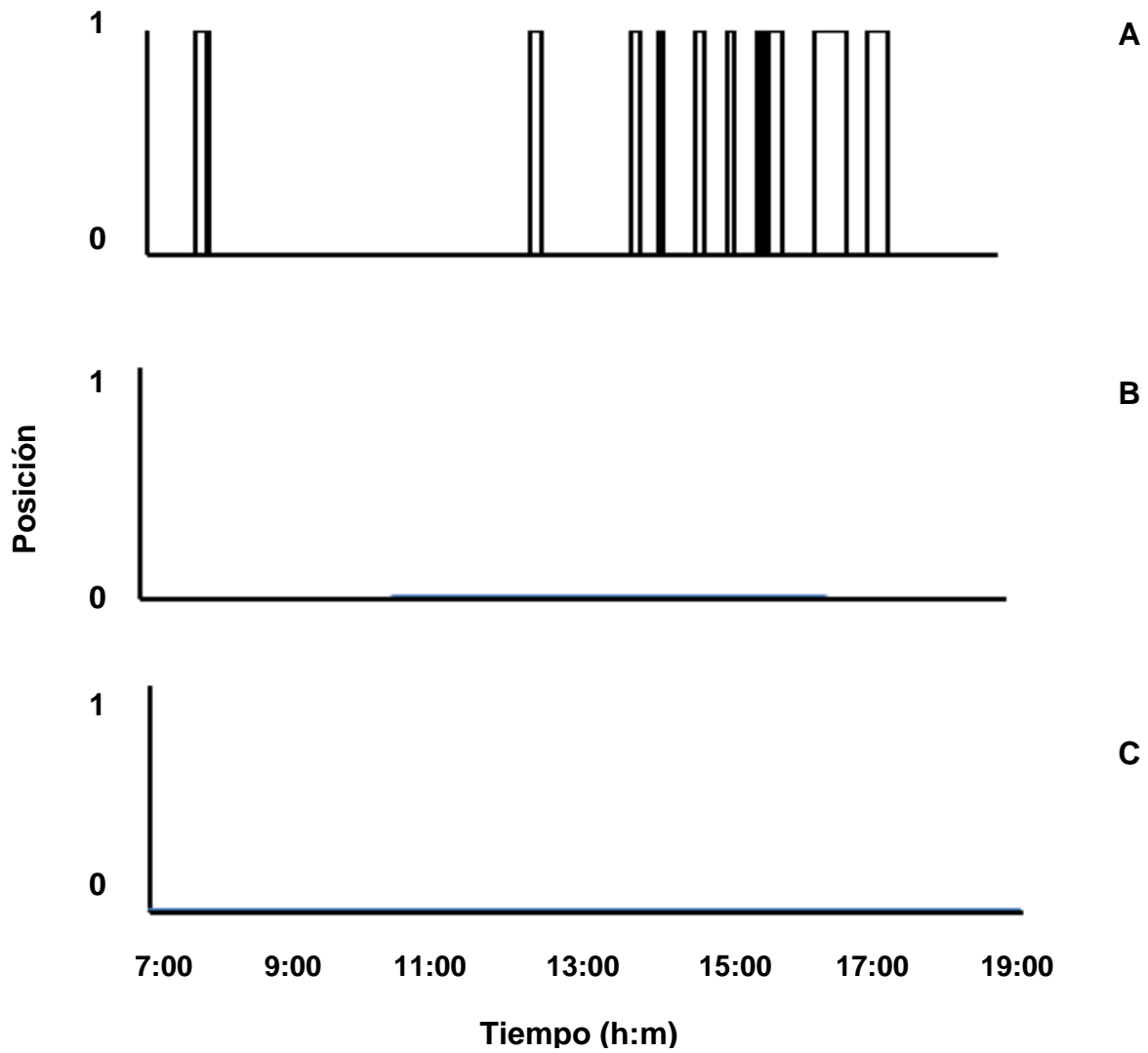


Figura 10.9. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 5, condiciones de aislamiento, A) Acocil 1, B) Acocil 2 y C) Acocil 3.

Triada 5.

Patrón de sueño de acociles en interacción social.

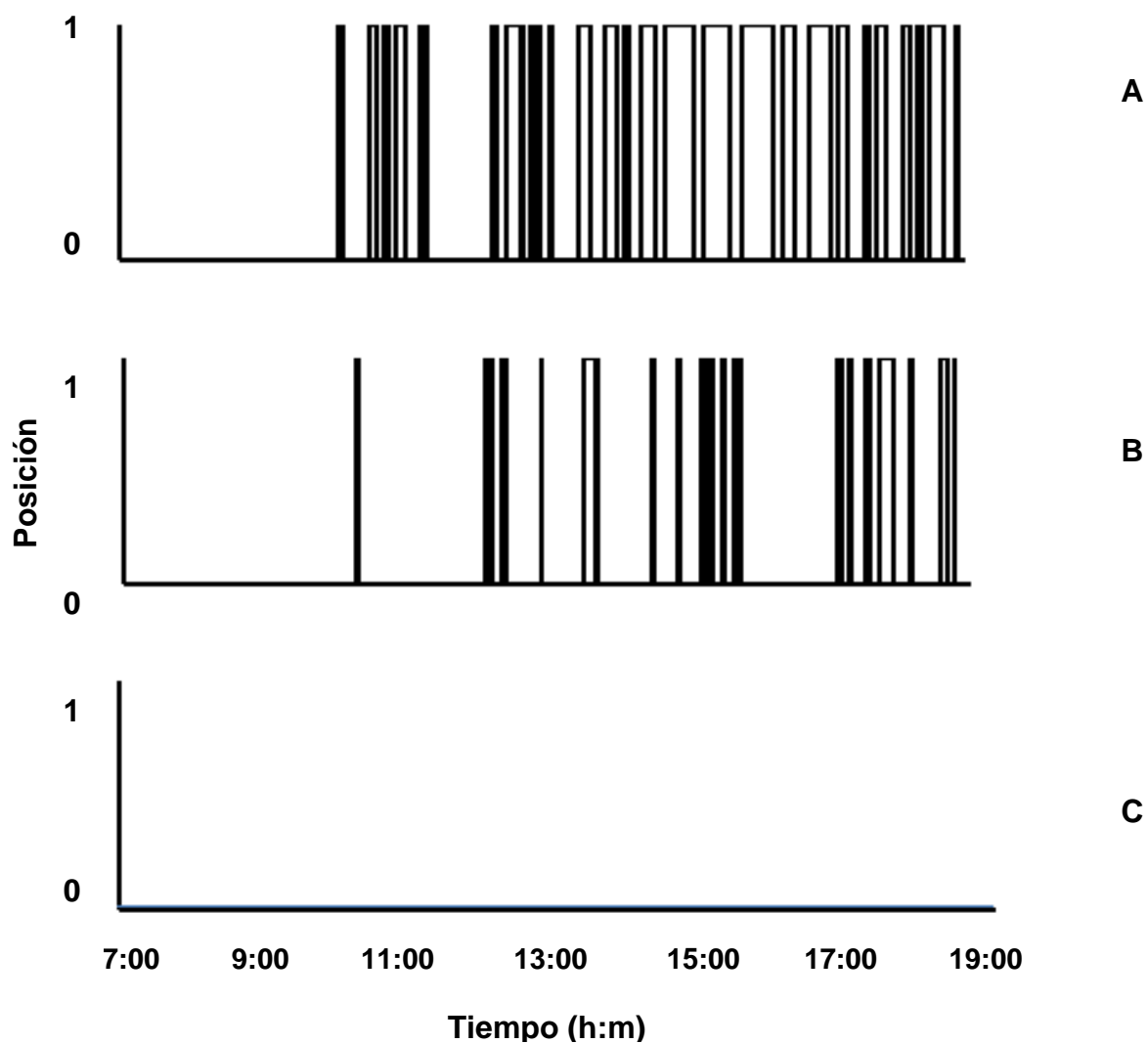


Figura 10.10. Registro conductual de 12 horas de los acociles de la triada 4, durante la interacción social, A) Dominante, B) Sumiso 1 y C) Sumiso 2.

Anexo 2.

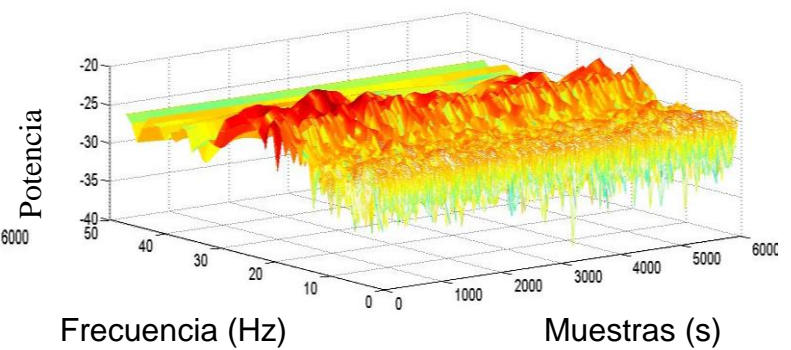
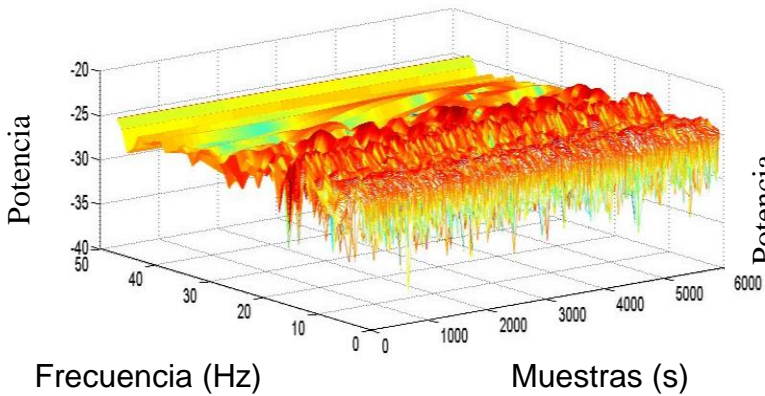
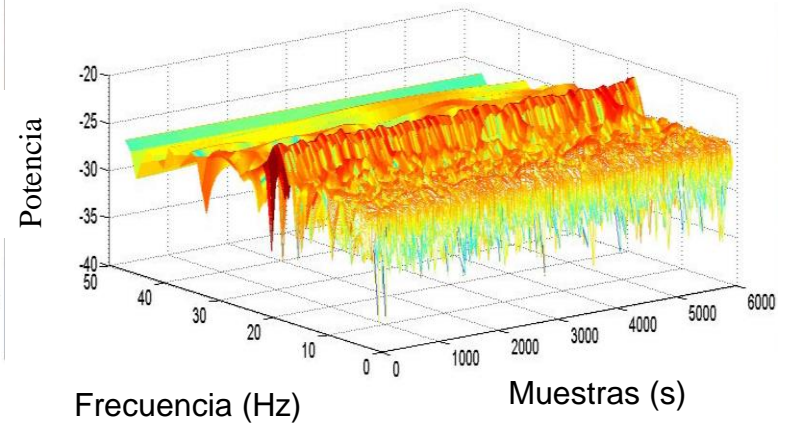
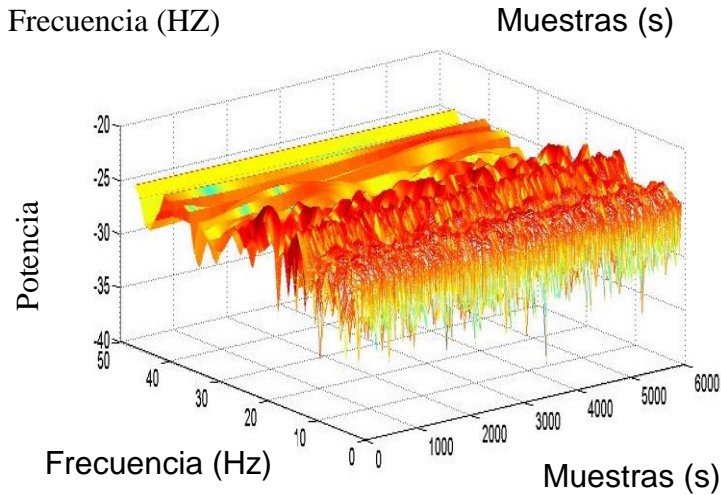
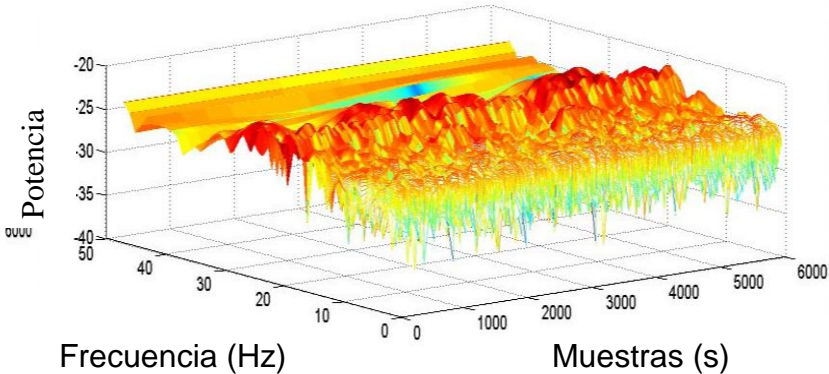
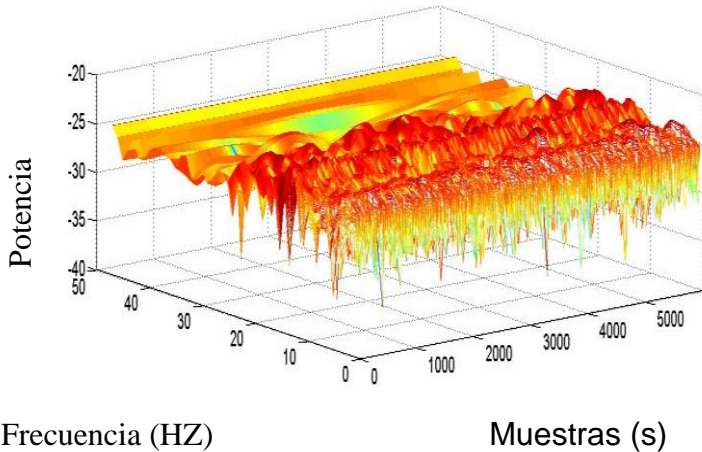
Registros electrofisiológicos en condiciones de aislamiento y en interacción social.

Los registros electrofisiológicos tuvieron una duración de 12 horas, particionados en periodos de 25 minutos.

Triada 2.

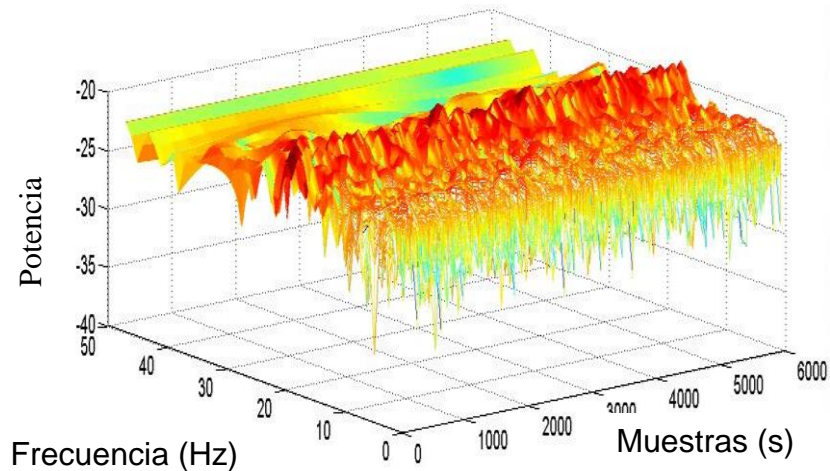
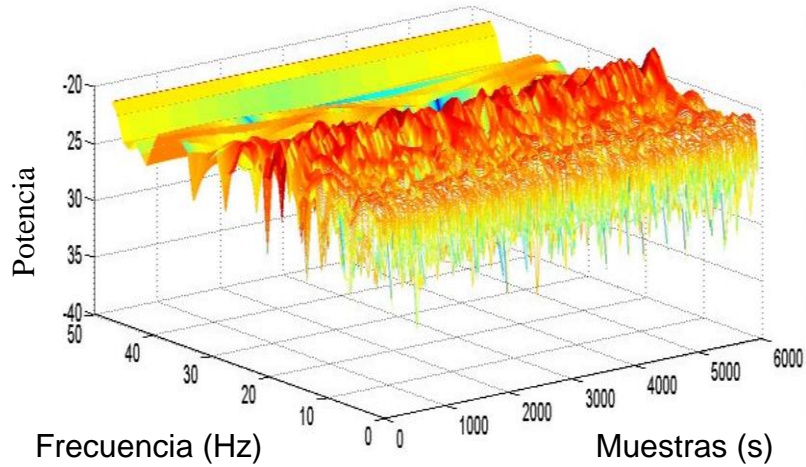
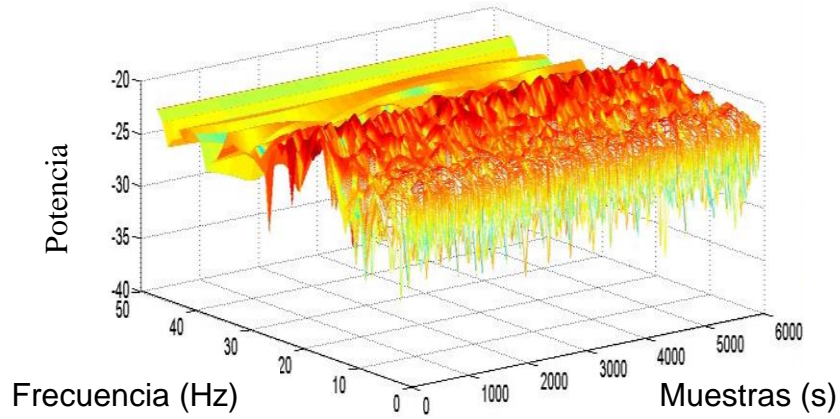
Aislamiento

Interacción social



10.11. Gráficas tridimensionales de la TW de la actividad eléctrica de deutocerebro correspondiente a un acocil dominante, cada gráfica representa 30s continuos de sueño.

En el caso de los sumisos en esta triada el acocil sumiso 1 adquirió la posición de lado únicamente durante la interacción social, el sumiso 2 no presentó transiciones de posición.



10.12. Gráficas tridimensionales de la TW de la actividad eléctrica de deuterocerebro correspondientes a un acocil sumiso, cada gráfica representa 30s continuos de sueño.