



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**CRONOBIOLOGIA DEL SUEÑO DE MOVIMIENTOS  
OCULARES RAPIDOS en *Octodon degus***

**FELIPE ANDRES HERNANDEZ MUÑOZ**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias  
Biológicas Animales

**PROFESOR GUIA: ADRIAN OCAMPO GARCES**

**SANTIAGO-CHILE**  
2005



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

CRONOBIOLOGIA DEL SUEÑO DE MOVIMIENTOS  
OCULARES RAPIDOS en *Octodon degus*

**FELIPE ANDRES HERNANDEZ MUÑOZ**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias  
Biológicas Animales

NOTA FINAL: .....

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUIA : ADRIAN OCAMPO GARCES	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO : RIGOBERTO SOLIS MUÑOZ	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO : PEDRO CATTAN AYALA	.....	.....

**SANTIAGO-CHILE**  
2005

## AGRADECIMIENTOS

La presente Memoria de Título no hubiese sido posible de llevar a cabo sin el apoyo de todas las personas que, de una u otra manera, me acompañaron y colaboraron durante todos estos meses.

Con especial cariño, doy las gracias a mi papás, por toda la paciencia y la preocupación que me demostraron siempre. Ellos fueron un pilar fundamental en todo este largo proceso, ya que me apoyaron en forma incondicional, de diversas maneras, para poder dar cuerpo a este trabajo.

A mi profesor guía, Adrián Ocampo, le agradezco la paciencia y buena voluntad para enseñar que demostró en todo momento, ya que, independiente de las grandes diferencias de nuestros intereses profesionales, logré asimilar una gran cantidad de conocimientos nuevos durante todo el período que formé parte del Laboratorio de Sueño y Cronobiología. Gracias al profesor Rigoberto Solís, por su importante colaboración durante este proyecto.

Al Dr. Gastón Duffau, por su importante apoyo en los métodos estadísticos, ya que sin su colaboración y paciencia, tal vez no hubiese podido llegar a los resultados de esta investigación. No puedo dejar de mencionar a Nelson Cortés, gran amigo y compañero de trabajo, que en diversas oportunidades tuvo la buena voluntad de ayudarme con los experimentos, sin importar la hora ni las circunstancias. Agradezco a Yamil Hussein, gran amigo y colega, quien me sirvió de nexo para llegar a realizar esta tesis y aportó con todo su talento para capturar increíbles imágenes del *Octodon degus*. Un reconocimiento a Cristián López, que siempre demostró una excelente disposición y buena voluntad para colaborarme con las labores de manejo de animales. Finalmente, una mención especial para todos mis amigos de universidad.

A todos ellos, muchas gracias por todo.

## INDICE

	Páginas
RESUMEN .....	3
ABSTRACT .....	4
INTRODUCCION .....	5
REVISION BIBLIOGRAFICA	
1. El Ciclo Sueño Vigilia .....	7
2. Organización temporal del Ciclo Sueño Vigilia.	
2.1 Ritmos circadianos .....	9
2.2 Mecanismos homeostáticos del dormir .....	11
2.3 Interacción entre los mecanismos homeostáticos y circadianos del dormir .....	14
3. Características del <i>O. degus</i> .....	15
4. Cronobiología del <i>O. degus</i> .....	19
5. Cronobiología del CSV del <i>O. degus</i> .....	20
HIPOTESIS .....	21
OBJETIVOS .....	22
MATERIAL Y METODO .....	23
RESULTADOS	
1. Caracterización del CSV en <i>O. degus</i> .	
1.1 Caracterización del pool de individuos registrados .....	32
1.2 Cronotipos del CSV .....	43
2. Caracterización de la homeostasis del sueño MOR en <i>O. degus</i> .....	50

## DISCUSION

1. Caracterización del CSV en <i>O. degus</i> .	
1.1 Patrón crepuscular del CSV .....	59
1.2 Cronotipos en <i>O. degus</i> .....	60
2. Caracterización de la homeostasis del sueño MOR en <i>O. degus</i>	
2.1 Respuesta homeostática del sueño MOR en <i>O. degus</i> y procesos circadianos.....	63
2.2 Interacción del sueño MOR con los otros estados del CSV .....	65
CONCLUSIONES .....	69
REFERENCIAS .....	70

## RESUMEN

El *Octodon degus* ha sido descrito como un animal de actividad diurna en su medio natural. En condiciones de laboratorio, presenta un perfil predominantemente crepuscular en su ritmo de actividad-reposo. Se ha descrito la existencia de múltiples cronotipos en esta especie, con individuos que expresan diversas predilecciones horarias de actividad: nocturna, diurna e intermedia. Interesa estudiar aspectos de la cronobiología del Ciclo Sueño Vigilia (CSV) del *O. degus*. Como en la mayoría de los mamíferos, en este roedor es posible distinguir tres estados: vigilia, sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) y sueño no-MOR (NMOR). La interacción entre los mecanismos homeostáticos del sueño MOR y los mecanismos circadianos, parece ser de particular interés en esta especie de actividad bimodal crepuscular. Un número de 15 animales capturados, fueron estudiados polisomnográficamente, luego de una habituación a las condiciones de laboratorio. Fueron mantenidos bajo un ciclo luz:oscuridad 12:12 hrs., con agua y alimento *ad libitum*. El encendido de la luz fue a la hora 00 y el apagado a la hora 12. Luego de una implantación crónica de electrodos, para estudios electroencefalográfico (EEG) y electromiográfico (EMG), los registros fueron adquiridos mediante un sistema automatizado. Se consideraron cuatro días de registro de línea de base para cada individuo, con el fin de realizar el estudio descriptivo del CSV. Diez animales completaron el estudio de privación de sueño. El protocolo completo consistió en cuatro días experimentales, con una privación de sueño de tres horas cada uno. Se combinaron dos variables: privación total o selectiva de sueño MOR, y comienzo a las 06 o 18 horas (fase diurna y nocturna, respectivamente). Los resultados demuestran la existencia de un patrón crepuscular con cronotipos nocturno y diurno en el *O. degus*. Los experimentos de privación sugieren que, la respuesta homeostática del sueño MOR está modulada por el sistema circadiano, siendo ésta eficiente sólo en la fase de oscuridad. La privación total de sueño no produjo respuesta compensatoria del sueño MOR. El sueño NMOR juega un rol crítico en la respuesta homeostática del sueño MOR en el *O. degus*. En suma, la respuesta homeostática del sueño MOR depende de la hora del día y de la modalidad de privación de sueño.

## ABSTRACT

*Octodon degus* has been described as a diurnal activity animal in its natural environment. In laboratory conditions, it shows a predominant crepuscular profile on its rest-activity rhythm. Multiple cronotypes have been described in this specie, with individuals showing several time-of-day preference for activity: nocturnal, diurnal and without preference. The goal of this study is determine chronobiological aspects of the sleep-wake cycle (SWC) of *O. degus*. Like most mammals, in this rodent it is possible to distinguish three states: wakefulness, rapid eye movement sleep (REM) and no-rapid eye movement sleep (NREM). The interaction between REM sleep homeostatic mechanism and circadian mechanism, seems of particular interest in this species with crepuscular bimodal activity. A number of 15 captured animals were polysomnographically studied, after adaptation to laboratory conditions. They were kept under a 12:12 light-darkness cycle, with water and food ad libitum. The light switch on was at 00 hour and the light switch off was at 12 hour. After chronic electrode implantation, EEG and EMG recording were obtained by a computer-based automated system. Four baseline days were recorded in each individual, a data that allowed a descriptive study of the SWC. Ten animals finished the complete sleep deprivation protocol. The full protocol consisted in four experimental days with a three hour sleep deprivation. Two variables were combined: total or REM-specific sleep deprivation and start time at 06/18 hours (diurnal and nocturnal phases, respectively). Results show the existence of a crepuscular pattern of sleep with nocturnal and diurnal chronotypes in *O. degus*. The deprivation experiments suggest that the REM sleep homeostatic response is modulated by the circadian system, but only in the dark phase. The total sleep deprivation did not induce a REM sleep compensatory response. NREM sleep seems to play a critical role on the REM sleep homeostatic response in *O. degus*. In summary, the REM sleep homeostatic response depends of time-of-day hour and the sleep deprivation modality.

## INTRODUCCION

El Ciclo Sueño Vigilia (CSV), ha sido estudiado en diversas especies de la clase de los mamíferos. En el CSV es posible distinguir 3 estados conductuales: la vigilia, el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) y el sueño no-MOR (NMOR) (Zepelin, 1994).

Existe una amplia diversidad en la organización temporal del CSV. Esta diversidad se asocia a patrones especie-específicos del ritmo de actividad-reposo. Es posible identificar tres patrones de actividad-reposo, de acuerdo a la predilección horaria de actividad: a) diurnos, b) nocturnos y c) crepusculares (fases de actividad asociadas al amanecer y al atardecer) (Smale *et al.*, 2003).

La mayoría de los estudios cronobiológicos del CSV se limitan a especies cuyo perfil de actividad-reposo sigue un patrón diurno o nocturno, como es el caso de los humanos y la rata (*Rattus norvegicus*) respectivamente. Ambas especies poseen en común un patrón unimodal en el perfil temporal de su ritmo de actividad-reposo, siendo la moda en los humanos centrada en torno al medio día, y en la rata en torno a la media noche (Zepelin, 1994).

Existen animales que escapan a esta categorización, como en el caso particular del *Octodon degus*. Diversas observaciones de campo llamaron la atención de los investigadores que describieron a este roedor como una especie de hábitos diurnos (Kenagy *et al.*, 2002). Dada la posibilidad de su reproducción en cautiverio, ha sido posible estudiar al *O. degus* en condiciones controladas. En laboratorio se ha observado un patrón bimodal crepuscular de su ritmo locomotor (Labyak *et al.*, 1997; Kas y Edgar, 1998 García-Allegue *et al.*, 1999).

Otro aspecto de interés de esta especie, es que en las poblaciones criadas en cautiverio, se han descrito de manera consistente diversos cronotipos en el ritmo de actividad-reposo, es decir, subpoblaciones que presentan aspectos distintivos en su predilección horaria

actividad (Labyak *et al.*, 1997; García-Allegue *et al.*, 1999; Kas y Edgar, 1999a; Refinetti, 1999).

Se dispone de escasa información con respecto a la organización temporal del CSV en el *O. degus*. Su marcado patrón de actividad crepuscular y la existencia de cronotipos lo transforman en un interesante modelo para estudios de cronobiología del sueño.

La presente memoria de título abordó el tema de la caracterización cronobiológica del Ciclo Sueño Vigilia (CSV) del *O. degus*, orientándose particularmente a describir la dinámica homeostática del sueño MOR y su relación con los mecanismos circadianos que lo regulan.

## REVISION BIBLIOGRAFICA

### 1. El Ciclo Sueño Vigilia (CSV).

El Ciclo Sueño Vigilia representa una sucesión ordenada de estados conductuales. Estos son la vigilia, el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) y el sueño no-MOR (NMOR). El sueño en general puede ser definido como un estado de reposo sostenido en una postura especie-específica, acompañado por una respuesta reducida a estímulos externos, junto con una rápida reversibilidad a la condición de vigilia y cambios característicos en el registro electroencefalográfico. La rápida reversibilidad distingue el sueño de coma y estados hipotérmicos, como hibernación (Zepelin, 1994). El sueño determina una “inmovilidad forzada”, que restringe la actividad del organismo a aquella fase del ciclo luz-oscuridad a la que se ha adaptado, contribuyendo así, de modo decisivo, a un “orden temporal interno” (Vivaldi, 2002).

Su función última se encuentra aún sin clarificar, pero el sueño ha estado implicado en muchos procesos fundamentales, como la restauración del metabolismo energético cerebral, termorregulación, reestructuración de procesos intracelulares y consolidación del aprendizaje y la memoria (Nicolau *et al.*, 2000; Steriade, 2001; Hobson y Pace-Schott, 2002; Gally y Edelman, 2004).

Operacionalmente, los estados del CSV sólo pueden ser definidos de manera inequívoca mediante el análisis polisomnográfico, que incluye el electroencefalograma (EEG) y el electromiograma (EMG). El EEG de la vigilia, es típicamente de baja amplitud y alta frecuencia, junto con una marcada actividad del EMG. En sueño NMOR hay dos tipos de actividades electroencefalográficas principales: los “husos de sueño”, así llamados por constituir trenes de ondas lentas y gran amplitud, de 11-16 Hz (banda sigma), con envolvente fusiforme, y las ondas Delta, que son ondas de gran voltaje y frecuencia de 0.5 a 4 Hz (Zepelin, 1994).

Los patrones fisiológicos asociados a este estado, son la presencia de tono muscular (disminuido respecto a la vigilia), y movimientos oculares lentos o ausentes. La respiración se vuelve profunda y regular, y la frecuencia cardíaca disminuye, al igual que la producción de calor. Esto provoca un pequeño descenso en la temperatura corporal, pero los mecanismos termorregulatorios permanecen activos, con sólo una leve reducción en su eficiencia (Parmeggiani y Morrison, 1990; Nicolau *et al.*, 2000; Saper *et al.*, 2001). Existe una suspensión de los procesos de conciencia relacionados con el medioambiente. La presencia de actividad onírica es rara (Conduit *et al.*, 1997).

El EEG del sueño MOR, se asemeja al de vigilia en su amplitud y frecuencia, y se le denomina “desincronizado”. En el registro EEG de los roedores, el MOR se observa por la aparición de ondas theta (4-8 Hz) tónicas, de origen hipocampal, asociadas a movimientos oculares rápidos, crispamiento de las extremidades y atonía muscular (Zepelin, 1994). La atonía muscular es activa y centralmente inducida, a diferencia de la simple relajación muscular del sueño NMOR (Vivaldi, 2002). Además, existe una pérdida de regulación homeostática, frecuencia cardíaca muy variable, respiración irregular y poiquiloterma. El metabolismo del cerebro se incrementa al nivel de vigilia y los umbrales sensoriales aumentan por sobre los de sueño NMOR. La corteza, aparentemente en vigilia, y aislada del mundo externo, genera actividad onírica (Nicolau *et al.*, 2000).

El sueño MOR presenta una ocurrencia periódica ultradiana. El ciclo de sueño ultradiano es operacionalmente definido como el episodio de sueño MOR y el intervalo adyacente sin sueño MOR. Este último puede ser ocupado exclusivamente por sueño NMOR, como usualmente en los humanos, o por proporciones variables de NMOR y vigilia como ocurre en el sueño fragmentado de la mayoría de los roedores (Zepelin, 1994). En humanos adultos, sueños NMOR y MOR alternan dentro de una fase diaria de sueño, durando cada ciclo alrededor de 90 minutos. En la rata y otros mamíferos, con una arquitectura de sueño polifásica, también se observa una recurrencia periódica de sueño MOR (12 minutos en la

rata), presentando un aumento de este estado durante la segunda mitad del período de reposo (Vivaldi *et al.*, 1994a).

## **2. Organización temporal del Ciclo Sueño-Vigilia (CSV).**

La regulación del CSV en mamíferos, es controlada por al menos dos procesos fundamentales: ritmos circadianos y mecanismos homeostáticos del dormir.

### **2.1 Ritmos circadianos.**

Son oscilaciones biológicas endógenas que tienen una longitud de período de aproximadamente 24 horas, constituyendo la manifestación externa de un sistema de sincronización interno, y siendo observados en una amplia diversidad de especies. (Van Esseveldt *et al.*, 2000).

Los ritmos circadianos se generan a partir de un marcapaso u oscilador circadiano principal (“reloj maestro”), que se encuentra localizado en el núcleo supraquiasmático (NSQ). El NSQ es un núcleo par, localizado en el hipotálamo anterior, arriba del quiasma óptico (Reppert y Weaver, 2002). Estudios preliminares, entregaron evidencia considerable para sugerir que dicho núcleo es el sitio donde se generan todos los ritmos biológicos en mamíferos. Por un lado, la actividad conductual circadiana es eliminada permanentemente por lesiones bilaterales del NSQ (Stephan y Zucker, 1972), mientras que, la ritmicidad circadiana puede ser reestablecida en un individuo con lesión del NSQ, mediante el trasplante de tejido de NSQ de un individuo intacto (Ralph *et al.*, 1990).

El “reloj maestro” está compuesto por unas 20.000 neuronas, las cuales poseen propiedades oscilatorias. Molecularmente, los ritmos circadianos son mantenidos por mecanismos de “feedback” positivo y negativo de genes circadianos (“genes reloj”), y sus productos proteicos, en las células del NSQ, los cuales son ajustados por el ciclo luz-oscuridad,

presentándose en ciclos de alrededor de 24 horas (Pace-Schott y Hobson, 2002; Reppert y Weaver, 2002).

Recientes investigaciones han entregado importantes hallazgos con respecto a las vías de entrada y salida de estímulos que involucran al NSQ. Estos incluyen el descubrimiento de una vía visual que se extiende desde la retina hasta el NSQ, constituida por el tracto retinohipotalámico, y que permite sincronizar los ritmos circadianos con los cambios de luz ambiental (Reppert y Weaver, 2002). De este modo, la principal clave ambiental para ajustar la fase de los ritmos circadianos es el ciclo luz-oscuridad (Van Esseveldt *et al.*, 2000). Por otra parte, se han descrito vías a través de las cuales el “reloj maestro” genera ritmos de salida, dirigidos a diversas zonas del organismo. En efecto, existen osciladores circadianos periféricos, dispersos en otras áreas del sistema nervioso central (corteza) y en distintos órganos periféricos (hígado, riñón, etc.), cuya actividad es comandada por el marcapaso circadiano central. Es así como, al sincronizarse este sistema multioscilar jerárquico, se consiguen una estabilidad y ajuste de fase precisos para las diversas actividades fisiológicas y conductuales (Hastings *et al.*, 2003). El CSV, junto a los sistemas endocrino y termostático, son algunos de los efectores del sistema circadiano. Así, a medida que progresa el CSV regular de cada individuo, su metabolismo es ajustado para anticiparse a las demandas y oportunidades del día. En efecto, a medida que se acerca el atardecer, la temperatura corporal de un individuo cae y la melatonina es liberada para facilitar el sueño. El inicio del sueño es acompañado por un incremento de la hormona del crecimiento y prolactina, mientras que antes del amanecer, la activación del eje adrenocorticotrópico prepara al individuo para las demandas físicas y mentales de la vigilia (Van Esseveldt *et al.*, 2000; Hastings *et al.*, 2003).

Los ritmos circadianos son de naturaleza endógena, lo cual se demuestra por su expresión permanente en un individuo que es aislado temporalmente de claves ambientales, con el marcapaso definiendo su día y noche circadianos, y preparándolo para las diversas demandas biológicas. El día y noche circadianos, son un concepto de tiempo biológico, aplicados cuando un individuo es aislado temporalmente, desprovisto de claves

ambientales externas. Todo el ciclo circadiano es dividido en 24 horas, con el Tiempo de Zeitgeber 0 (TZ00), que corresponde al amanecer subjetivo, y Tiempo de Zeitgeber 12 (TZ12) que corresponde al atardecer subjetivo. Por lo tanto, para roedores nocturnos, el inicio de la actividad locomotora en TZ12, marca el comienzo de la noche circadiana (Hastings *et al.*, 2003).

Los ritmos circadianos poseen un alto valor adaptativo, al coordinar la conducta del individuo (vigilia, reposo, alimentación, reproducción, migración, etc.), con la fase apropiada del ciclo luz-oscuridad, de acuerdo a sus necesidades especie-específicas. Se ha propuesto que el sistema circadiano modula la vigilia y el sueño MOR. La modulación circadiana de la vigilia circunscribe la actividad locomotora del animal, determinando en última instancia el cronotipo. En los mamíferos, es posible distinguir cronotipos diurnos, nocturnos y crepusculares (Smale *et al.*, 2003). Existen pocas especies en las cuales se han descrito múltiples cronotipos. El caso del humano es uno de los más estudiados, ya que se han distinguido individuos con mayor actividad en la mañana (*morning type* o alondras), y otros que prefieren estar activos durante la tarde (*evening type* o búhos) (Horne y Ostberg, 1976).

## **2.2 Mecanismos homeostáticos del dormir.**

Ante una vigilia prolongada (privación sueño), los mamíferos despliegan una respuesta de “rebote de sueño”. El rebote de sueño, o respuesta compensatoria del sueño, se caracteriza por aumento en la consolidación (duración de episodios), intensificación (aumento de la profundidad del sueño NMOR) y aumento en el tiempo en estados de sueño la duración del sueño. Al compensar las pérdidas de sueño y disminuir consecuentemente la somnolencia, los mecanismos homeostáticos permiten mantener niveles adecuados de rendimiento durante la vigilia (Tobler y Borbély, 1986).

La privación de sueño cualquier situación que altera la espontánea ocurrencia de las fases de sueño. Es empleado con fines académicos para estudiar la función del sueño e investigar los mecanismos que controlan la regulación del CSV. Es posible realizar privaciones totales de sueño o privaciones selectivas de un estado o subestado en particular. Durante la privación de sueño, se observa que los intentos por dormir (transiciones de vigilia-NMOR y NMOR-MOR), se hacen progresivamente más frecuentes. Una vez finalizado el protocolo, ocurre la respuesta de rebote de sueño, que consiste en un aumento en la cantidad y duración del dormir respecto a la línea de base. El aumento de los intentos por dormir puede ser interpretado como el incremento de la “presión al sueño”. El rebote de sueño puede ser interpretado como la liberación de la presión al sueño acumulada durante la privación. Estos dos parámetros permiten caracterizar cuantitativamente los mecanismos homeostáticos del dormir (Endo *et al.*, 1997; Ocampo-Garcés *et al.*, 1999; Franken, 2002; Ocampo-Garcés y Vivaldi, 2002; Vivaldi, 2002).

La hipótesis de que el sueño MOR es homeostáticamente regulado ha sido demostrada en experimentos de privación selectiva de sueño MOR. Durante el intervalo de privación se observa un incremento progresivo en la frecuencia de intentos para entrar al sueño MOR, asociado a un rebote de sueño MOR durante las primeras horas de recuperación subsecuente (Benington y Heller, 1994; Franken, 2002). El número de intentos de transiciones desde sueño NMOR a MOR aumenta durante la privación selectiva de sueño MOR o en la ausencia de episodios de MOR durante el sueño espontáneo. En protocolos de privación selectiva de sueño MOR, el número de intervenciones requeridas para mantener la privación aumenta monotónicamente durante al menos las primeras horas del protocolo, hasta alcanzar un plató. El curso temporal y número de los intentos de sueño MOR, permite una aproximación cuantitativa a la presión sueño MOR. (Benington *et al.*, 1994; Endo *et al.*, 1997; Ocampo-Garcés *et al.*, 2000; Werth *et al.*, 2002).

Existen diversas interpretaciones a los mecanismos que determinan la presión homeostática al sueño MOR. Benington y Heller (1994) propusieron que la propensión al sueño MOR se establece a través de una relación específica con el sueño NMOR. La hipótesis de Benington y Heller, propone que los procesos metabólicos y neurobioquímicos asociados a la ocurrencia de sueño NMOR, determinan la ocurrencia del sueño MOR. La ocurrencia periódica del MOR en la fase de sueño ocurriría como un proceso de “reloj de arena”, donde la fuerza motriz del proceso es la acumulación de la presión al sueño MOR durante los intervalos de NMOR. Cuando la presión al MOR alcanza un valor crítico, ésta se descarga en la ocurrencia de un episodio de sueño MOR, iniciándose un nuevo ciclo. Alternativamente, diversos autores han sugerido que la presión homeostática al sueño MOR está determinada por intervalos de ausencia de sueño MOR, es decir, en los intervalos de vigilia y/o sueño NMOR. La validez de una de éstas alternativas puede ser puesta a prueba mediante diversos procedimientos que combinan, en proporción variable, la privación total de sueño y la privación selectiva de sueño MOR (Franken, 2002).

Vivaldi *et al.* (1994b) caracterizaron la organización ultradiana de sueño (ciclos que alternan el sueño NMOR y el MOR durante la fase de reposo) en la rata. Los resultados fueron consistentes con un modelo donde la frecuencia y duración de los episodios de sueño MOR, de ocurrencia espontánea, podía ser explicada por la propensión acumulada en los intervalos de vigilia y sueño NMOR. Estudios de privación selectiva de sueño MOR de corto plazo posteriores, sugieren que la homeostasis del MOR en la rata opera a la escala temporal de los ciclos ultradianos de sueño (Ocampo-Garcés y Vivaldi, 2002)

Endo *et al.* (1997) realizaron un estudio en que se combinaron 12 horas de privación total de sueño, seguidas de cuatro horas de privación total de sueño, privación selectiva de sueño MOR, o privación selectiva de sueño de ondas lentas (sueño de ondas delta) en la rata (el tiempo total de privación combinada fue de 16 horas). En las horas de recuperación se observaron rebotes de sueño MOR comparables entre los protocolos experimentales. Estos resultados sugieren, en contra del modelo de Benington y Heller, que en la rata, el rebote de

sueño es función de la deuda de sueño MOR, y no de la expresión de sueño NMOR. En la misma línea argumental, Ocampo-Garcés *et al.* (2000) confeccionaron tres protocolos de privación de corto plazo (3 horas en total) combinando proporciones variables de privación total de sueño y la privación selectiva de sueño MOR, en la rata. El estudio demostró que la frecuencia de intentos de sueño MOR (presión al sueño MOR) y la magnitud del rebote de sueño MOR observadas, no tenían relación con la cantidad de NMOR acumulada durante las privaciones. Estos resultados sugieren que, la vigilia es tan relevante como el sueño NMOR en la acumulación de la presión al sueño MOR (Franken, 2002).

### **2.3 Interacción entre los mecanismos homeostáticos y circadianos del dormir.**

El sueño MOR es blanco de regulación del sistema circadiano. La propensión espontánea al MOR (latencia al MOR), la cantidad de MOR y la frecuencia de episodio de MOR, oscilan de manera sistemática con un período cercano a las 24 horas en individuos mantenidos en *carrera libre*. Dijk y Czeisler (1995) demostraron que los diversos parámetros cronobiológicos antes mencionados del sueño MOR oscilan en fase con el ritmo de la temperatura corporal. Los máximos valores de propensión al MOR se observan en la horas del nadir (mínimo) de la temperatura corporal, que en humanos corresponde a la segunda mitad de la fase de reposo (la madrugada). En un animal nocturno como la rata, la máxima ocurrencia de sueño MOR ocurre en la segunda mitad de su fase de reposo diurno (Vivaldi *et al.*, 1994a).

Diversas evidencias sugieren que los mecanismos homeostáticos interactúan con los circadianos. Un estudio crucial fue el realizado, comparando la respuesta homeostática del sueño MOR en ratas intactas, con la de ratas lesionadas en el NSQ (individuos sin ritmo circadiano). En ambos grupos se realizaron privaciones selectivas de sueño MOR, de 24 horas de duración, bajo condiciones de oscuridad constante, las que se iniciaron y terminaron en cuatro diferentes fases circadianas. Posteriormente, en todas las situaciones se observó rebote de sueño MOR (incluidas las ratas lesionadas), pero en las ratas intactas la eficiencia de la respuesta homeostática varió dependiendo de la hora del día, siendo

máxima cuando las horas de recuperación correspondieron a la fase de reposo. Esto sugiere que, el ritmo circadiano favorece el proceso de recuperación de sueño MOR a ciertas horas. Además, los incrementos en la presión al sueño MOR durante su privación, y su rebote posterior, en ratas con lesión del NSQ, demuestran que los mecanismos homeostáticos del sueño MOR son independientes de la indemnidad anatómica del marcapaso circadiano (Wurst y Edgar, 2000).

Experimentos de privación selectiva de sueño MOR efectuados en humanos, sugieren diferencias en la operatividad de los mecanismos homeostáticos, dependiendo de la fase circadiana. Protocolos de privación efectuados en la noche (fase de reposo humano), gatillaron un incremento marcado de las transiciones a sueño MOR durante la privación seguido de un rebote de sueño MOR (Endo *et al.*, 1998). Privaciones selectivas durante la fase activa humana (mañana o medio día) obtuvieron un incremento moderado de los intentos de sueño MOR seguidos de un mínimo rebote de sueño MOR post-privación (Werth *et al.*, 2002). En suma, en la rata y el humano existen evidencias de la interacción entre los mecanismos circadianos, que modulan los niveles basales del sueño MOR durante el día, y los homeostáticos, que compensan desviaciones en los valores de referencia de sueño MOR establecidos por el ritmo circadiano (Franken, 2002).

### **3. Características del *O. degus*.**

El Orden Rodentia se distribuye por casi todo el planeta, constituyendo sobre el 40% de todas las especies de la clase Mammalia. Comprende unas 43 familias vivientes, con alrededor de 354 géneros y unas 1700 especies (Muñoz-Pedrerros, 2000).

Dentro del suborden Histicognatha, se encuentra el *O. degus*, el cual fue descrito por primera vez por Molina en 1782. Esta especie endémica de Chile central, es conocida también con los nombres de degu, ratón cola de trompeta y bori. Su distribución geográfica comprende desde la provincia de Huasco, Vallenar (III región) hasta Rapel (VI región). Es

un habitante típico de las estepas xerofíticas centro-chilenas, sabana y matorrales de la zona costera y valle central, asociado estrechamente a la presencia de espinos (*Acacia caven*). Las dimensiones de un degu adulto son de 325 a 440 mm. (cabeza a cola), con un peso de 170 a 300 gr. Es un roedor caviomorfo, de pelaje firme, poco sedoso, y de color café amarillento en el dorso. Este se torna amarillo-ocráceo en los flancos, para alcanzar un amarillo blanquecino sobre la región ventral del cuerpo. Además, presenta un área de color amarillo pálido sobre y bajo el ojo. Las manos y los pies presentan un dorso blanco grisáceo. La cola, que es incurvada dorsalmente y con un pincel terminal de pelos negros, desempeña las funciones de balancín durante el correr, que amortiguan los excesivos impulsos de lateralidad generados en la columna vertebral. Sus extremidades posteriores son largas, musculosas y favorables para el salto. En la mano se desarrolla un pequeño quinto dedo. Posee ojos grandes y pabellones auriculares desarrollados. Los molares presentan repliegues característicos, asemejando una forma de ocho, dando el nombre familiar y genérico. La fórmula dental es: I 1/1, C 0/0, P 1/1, M 3/3 (Total: 20). El cráneo posee un foramen infraorbital bien desarrollado y una fosa pterigoidea abierta. La bulla timpánica es de tamaño moderado. La mandíbula es de tipo histricognatha y sus dos ramas están estrechamente unidas (Woods y Boraker, 1975; Mann, 1978; Muñoz-Pedreros, 2000).

Las características anatómicas del *O. degus*, lo transforman en un excelente cavador y corredor. Sus incisivos firmes y manos sólidas cumplen la función de cavar, mientras que el tren posterior, gracias a su gruesa musculatura, permite afianzar por sí solo a todo el cuerpo durante esta actividad (Mann, 1978).

Se alimenta de follaje, tejido conectivo, raíces, semillas de gramíneas y cortezas. Su metabolismo hídrico se satisface con el agua contenida en el forraje, no bebiéndola directamente en su hábitat natural (Muñoz-Pedreros, 2000).

Alcanza su madurez sexual en el primer año de vida. Presenta reproducción estacional, con apareamientos entre julio y octubre. La preñez dura 87 a 93 días y se desarrollan 3 a 4

embriones en cada cuerno uterino. Las crías nacen en un estado de desarrollo muy avanzado (Mann, 1978; Muñoz-Pedrerros, 2000).

La observación directa de campo del *O. degus* es factible, ya que es de hábitos diurnos y habita zonas de matorral abiertas con escasa cubierta arbustiva. Es un animal colonial, existiendo grupos conformados por un pequeño número de individuos hasta varios cientos de ejemplares (Ebensperger, 1998). Estos excavan vastos sistemas de galerías, los que desembocan por múltiples salidas al exterior, las que se encuentran en relación al abrigo de piedras, troncos u otros accidentes ambientales, comunicándose entre sí a través de senderos a nivel del suelo. Estos son utilizados por el *O. degus* para desplazarse entre lugares distantes dentro de su rango de hábitat. Amplias cámaras de anidación y de dormitorio, irregularmente dispuestos bajo tierra, complementan el laberinto de las galerías (Vásquez, 1997)

Estudios de campo, han demostrado que el *O. degus* cambia su patrón de actividad diario, a lo largo del año, en respuesta a las variaciones de la longitud del día y temperatura medioambiental. De este modo, presenta episodios de actividad crepusculares durante el verano, cambiando hacia un patrón diurno durante el invierno (Kenagy *et al.*, 2002).

Además, presenta conductas de vigilancia, alerta, huida e interacciones intraespecíficas, asociadas a competencia por apareamientos. Es así como, los baños de tierra cumplen un rol de comunicación olfativa entre machos, modificando su patrón en respuesta a marcas previas de otros individuos del mismo sexo (Ebensperger y Caiozzi, 2002). Estudios recientes han demostrado que las marcas territoriales de orina cumplen un rol de comunicación visual entre individuos, reflejando la luz ultravioleta, a la cual el *O. degus* presenta sensibilidad (Chávez *et al.*, 2003).

Presenta mecanismos de defensa pasiva que lo protegen de sus principales depredadores naturales, tales como su característicos movimientos rápidos y bruscos, interrumpidos por pausas cortas. En áreas desprotegidas y de escasa cubierta arbustiva, presenta mayores velocidades de desplazamiento, así como pausas más prolongadas, las que se asocian a un incremento en la conducta de vigilancia (Vásquez *et al.*, 2002).



Figura 1. *Octodon degus*.

Foto: Yamil Hussein E.

#### **4. Cronobiología del *O. degus*.**

La mayoría de los estudios cronobiológicos animales en cronofarmacología, conducta y fisiología del sistema circadiano, han sido desarrollados en modelos animales nocturnos. En atención a esto, el diurnalismo observado en el *O. degus*, ha sido puesto a prueba en laboratorio. Es así como, se ha demostrado que esta especie tiende a concentrar su actividad en horas de luz, con un patrón de actividad bimodal crepuscular (Labyak *et al.*, 1997; Kas y Edgar, 1998; García-Allegue *et al.*, 1999). El patrón crepuscular del *O. degus* persiste en ausencia de claves ambientales (oscuridad constante), y bajo condiciones controladas en laboratorio (esquemas de luz y temperatura constantes), lo que sugiere que es una característica definida endógenamente (García-Allegue *et al.*, 1999; Kas y Edgar, 1999a). Asociado al patrón crepuscular de actividad, se han descrito dos picos de temperatura corporal asociados a las modas crepusculares de actividad. El mínimo de temperatura corporal, según este estudio se localiza en la segunda mitad de la fase de oscuridad (en ciclo luz:oscuridad 12:12) (Refinetti, 1996 ).

En poblaciones de *O. degus* criados en cautiverio, se ha observado que el patrón crepuscular ofrece variaciones interindividuales robustas, es decir, el *O. degus* parece ser una especie de múltiples cronotipos (Labyak *et al.*, 1997; García-Allegue *et al.*, 1999; Kas y Edgar, 1999a). Los cronotipos fueron definidos por Labyak *et al.* (1997) y García-Allegue *et al.* (1999), de acuerdo a la predilección matinal (*morning type*) o vespertina (*evening type*). Por su parte, Kas y Edgar (1999a) distinguieron poblaciones de cronotipo nocturno y diurno. Hoy no existe consenso establecido para la clasificación de los cronotipos para esta especie.

## **5. Cronobiología del CSV del *O. degus*.**

En el *O. degus* ha sido descrita la proporción en que cada uno de los estados contribuye al ciclo sueño vigilia: 62,6% de vigilia, 34% de sueño NMOR y 3,4% de sueño MOR. Bajo condiciones de laboratorio, con horario luz-oscuridad 12:12, el *O. degus* presenta un CSV altamente fragmentado, con dos episodios importantes de vigilia asociados al encendido y apagado de la luz. Entre ambos períodos de actividad, es decir, en torno al medio día y la media noche, se concentran los estados de sueño NMOR y MOR. Ambos tipos de sueño se encuentran distribuidos de manera aparentemente indiferente entre el día y la noche (Kas y Edgar, 1998). Estudios de privación total de sueño en *O. degus*, han demostrado la operatividad de los mecanismos homeostáticos del dormir en esta especie. Se ha observado además, que la fase de actividad asociada al amanecer (encendido de la luz en cautiverio), sería promovida activamente por el sistema circadiano, interfiriendo con la duración y consolidación del sueño en el amanecer (Kas y Edgar, 1999b). No existen estudios en la literatura referentes a la organización temporal del sueño MOR.

## HIPOTESIS

### **El problema.**

El sueño MOR es un estado fuertemente modulado por el sistema circadiano. Se ha observado que la propensión al sueño MOR posee un perfil unimodal, con una máxima (acrofase) en la mitad de la fase de reposo en especies diurnas (humanos) y nocturnas (ratas) (Vivaldi *et al.*, 1994a), asociada a los mínimos de temperatura corporal (Dijk y Czeisler, 1995). No existe literatura que describa la cronobiología del CSV en especies con ritmo de actividad reposo de perfil crepuscular. Interesa caracterizar los mecanismos homeostáticos y circadianos del sueño MOR, y explorar la dinámica de la homeostasis del sueño MOR en las fases de reposo ubicadas en oposición de fase (medio día y media noche) en el CSV del *O. degus*. Interesa, además, contribuir a dilucidar la relación entre la homeostasis del sueño MOR y los otros estados del CSV (vigilia y NMOR).

Se formulan las siguientes hipótesis:

1. En *O. degus*, la modulación circadiana de sueño MOR es unimodal.
2. La presión homeostática de sueño MOR se acumula en ausencia de sueño MOR, sin una relación específica con la vigilia o el sueño NMOR.

## **OBJETIVO GENERAL**

Caracterización de la homeostasis del sueño MOR en el *O. degus*.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Caracterización del MOR en condiciones basales.
2. Evaluación de la respuesta homeostática del sueño MOR en función de la hora de privación.
3. Interacción de la homeostasis del MOR y los otros estados del CSV.

## MATERIAL Y METODO

### Captura de animales.

Para llevar a cabo la captura de los animales, se emplearon trampas medianas de tipo Sherman, cebadas con avena. Se capturaron 15 individuos adultos, de distinto sexo, en los sectores de Quebrada de Alvarado, Quinta Región, y Quebrada de La Plata, Región Metropolitana.

Tabla I. Identificación de los *O. degus* (OD) capturados (n=15).

<i>O. degus</i> (OD)	Sexo	Peso	Lugar de procedencia
1	MACHO	186 gr.	Quebrada de La Plata
2	MACHO	213 gr.	Quebrada de La Plata
3	MACHO	210 gr.	Quebrada de La Plata
4	MACHO	210 gr.	Quebrada de Alvarado
5	MACHO	263 gr.	Quebrada de La Plata
6	MACHO	185 gr.	Quebrada de La Plata
7	MACHO	290 gr.	Quebrada de Alvarado
8	MACHO	226 gr.	Quebrada de La Plata
9	MACHO	190 gr.	Quebrada de La Plata
10	MACHO	163 gr.	Quebrada de La Plata
11	MACHO	248 gr.	Quebrada de La Plata
12	HEMBRA	157 gr.	Quebrada de La Plata
13	MACHO	178 gr.	Quebrada de La Plata
14	MACHO	266 gr.	Quebrada de La Plata
15	HEMBRA	160 gr.	Quebrada de La Plata

Los animales fueron mantenidos en cuarentena por lo menos un mes post-captura, en un ciclo de luz y oscuridad 12:12 y alimentados con alimento peletizado formulado para crecimiento de conejos y verduras, en el Bioterio de la Universidad de Valparaíso.

### **Procedimiento anestésico.**

Cada animal fue pesado en una balanza, y posteriormente sometido a anestesia profunda, mediante la combinación de xilazina 2% (8 mg/kg) y ketamina 10% (40 mg/kg) vía intramuscular. Una vez comprobado el estado de depresión disociativa del individuo, se dio inicio a la preparación quirúrgica.

### **Preparación quirúrgica.**

Se depiló el área del cráneo superior de cada animal, utilizando una máquina de rasurar desechable. Posteriormente, cada individuo fue posicionado en un aparato estereotáxico, permitiendo así su fijación para el procedimiento quirúrgico. Finalmente, se aplicó una solución de povidona yodada sobre el área depilada, utilizando una varilla de algodón. Todo el material quirúrgico empleado, fue previamente esterilizado en autoclave.

### **Procedimiento quirúrgico.**

1. Incisión de la piel a nivel de la línea media de la superficie craneal. Utilización de mango de bisturí N°3 con hoja desechable N°10. Empleo de pinza anatómica para permitir una adecuada sujeción de la piel durante esta maniobra.
2. Ampliación de la línea de incisión mediante el uso de tijera Mayo y aplicación de agua oxigenada sobre el área descubierta, para remover el tejido craneal periférico, y tener así una visión total de la superficie de la calota y de bregma (fontanela que divide hueso frontal de parietal).
3. Marcaje de los puntos a nivel de los cuales se implantarán los electrodos epidurales: 2 frontales (+3 respecto a bregma y +/- 3 medial-lateral), y 2 occipitales (-5.5 respecto a bregma y +/- 3 medial-lateral).

4. Utilización de un taladro eléctrico, junto con una broca de 44 mm de largo, 2,3 mm de diámetro (cuerpo) y 0,9 mm de diámetro (cabeza), para realizar los agujeros sobre los puntos marcados previamente, según las coordenadas establecidas.
5. Implante crónico de 4 electrodos epidurales. Cada uno de estos, corresponde a un tornillo de 4,7 mm de largo y 1,17 mm de diámetro, soldado a una porción de cable de acero inoxidable, el cual posee aislamiento con teflón (con excepción de sus extremos). Para la instalación de los electrodos, se empleó un desatornillador de paleta de 1,4 mm de diámetro.
6. Aplicación de una delgada capa deacrílico dental autocurable a nivel de las bases de los tornillos, para asegurar su adecuada fijación al tejido óseo.
7. Prolongación de la línea de incisión de la piel hacia caudal, mediante el uso de tijera Mayo, con el propósito de exponer los músculos de la nuca.
8. Implante crónico de 4 electrodos (porciones de cable de acero inoxidable, aislado con teflón (con excepción de sus extremos)), a nivel de los músculos de la nuca, posicionados en forma bilateral en relación a la línea media. Para esto, se utilizaron un porta-agujas Mayo Hegar y una aguja de sutura simple, curva y atraumática.
9. Fijación de electrodos epidurales y musculares a un conector hembra en miniatura, el cual fue herméticamente sellado previamente, conacrílico dental autocurable. La fijación se realizó mediante soldadura con plomo y ácido ortofosfórico.
10. Recubrimiento de todo el implante, mediante la aplicación deacrílico dental autocurable.

### **Período post-operatorio.**

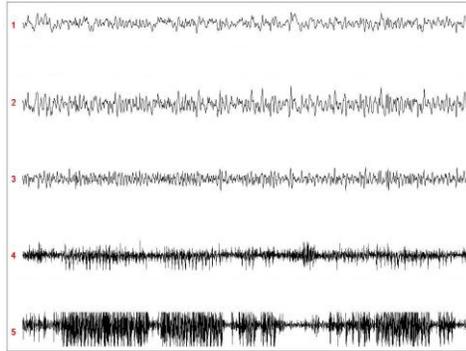
Como medida de profilaxis, se aplicó enrofloxacino 5% (10 mg/kg, SC, c/24 horas por 3 días). Durante 7 días, los animales fueron confinados en jaulas de 30x30x25 cm, ubicadas dentro de cámaras de aislamiento de 60x60x70, y mantenidos bajo un horario luz-oscuridad 12:12, temperatura ambiente de 21-24°C, con agua y alimento *ad libitum*. Toda esta implementación se encuentra en el Laboratorio de Sueño y Cronobiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

### **Registro y adquisición de datos.**

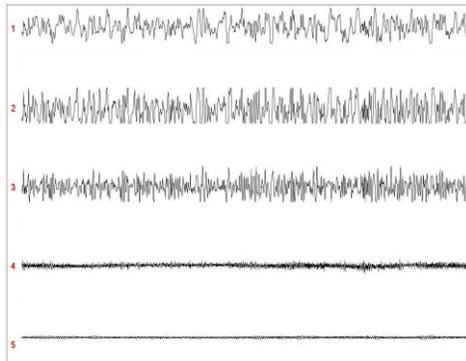
Transcurridos los 7 días del período post-operatorio, los animales fueron conectados para ambientación a las condiciones de registro (Este período fue aprovechado para establecer las mejores derivaciones de EEG y EMG). El cable de conexión del *O. degus*, constituido por dos conectores macho en miniatura (uno en cada extremo), se encontraba anclado a un conmutador y a un sistema de contrabalanceo, los que permitían el libre desplazamiento del animal en su jaula.

La señal fue amplificada y filtrada (Band-pass 1-30 Hz para el EEG y filtrada a 30 Hz para EEG). Un sistema automatizado de adquisición de datos, basado en el programa computacional LABWINDOWS, registró, cuantificó y almacenó de manera continua el EEG, EMG y actividad-reposo (asociado a movimiento de jaula). La visualización del polisomnograma (EEG+EMG+Movimiento de jaula), permitió realizar diagnóstico de estado, con una resolución temporal de 15 segundos, de acuerdo a criterios establecidos en la literatura (Kas y Edgar, 1998).

## VIGILIA



## SUEÑO NMOR



## SUEÑO MOR

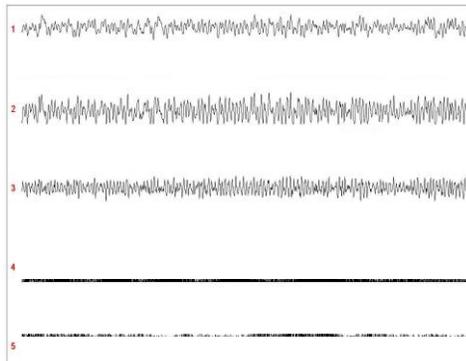


Figura 2. Registro polisomnográfico de los estados del CSV (vigilia, sueño NMOR y sueño MOR). Los canales 1,2 y 3 corresponden al registro del EEG. El canal 4 corresponde al EMG. El canal 5 corresponde al movimiento de jaula.

### **Protocolo experimental.**

Después de 2 días de adaptación, los animales fueron registrados de manera imperturbada durante 4 días (línea de base). A continuación, fueron sometidos a los siguientes procedimientos:

1. Privación total de sueño de 3 horas.
2. Privación selectiva de sueño MOR de 3 horas.

Cada una de estas privaciones se realizó dos veces, en función de la fase circadiana, expresando las horas como Tiempo de Zeitgeber (TZ). Este corresponde al tiempo sincronizado con una clave ambiental, que en este caso, es el ciclo luz-oscuridad 12:12. De este modo, la hora TZ00 coincide con el encendido de la luz. En una ocasión, la privación ocurrió entre las horas TZ06 y TZ08:59 (que corresponde a la fase de reposo diurno), mientras que, en una segunda ocasión, ocurrió entre las horas TZ18 y TZ20:59 (que corresponde a la fase de reposo nocturno). Se consideró un día de reposo entre los distintos protocolos experimentales. Las privaciones se llevaron a cabo mediante movimientos suaves de jaula (Ocampo-Garcés *et al.*, 2000; Ocampo-Garcés y Vivaldi, 2002).

Diez animales completaron el protocolo experimental. Cinco animales no completaron la serie de procedimientos: OD 2, OD 4, OD 5, OD 7 y OD 11 (ver Tabla I). Entre las causas de interrupción de los registros, se consideran desconexiones irreversibles y muerte de individuos. En el caso del OD 6, no fue posible someterlo a la privación selectiva de sueño MOR de la hora TZ06, debido a que las características del registro EEG, se escapaban de los parámetros normales esperados.

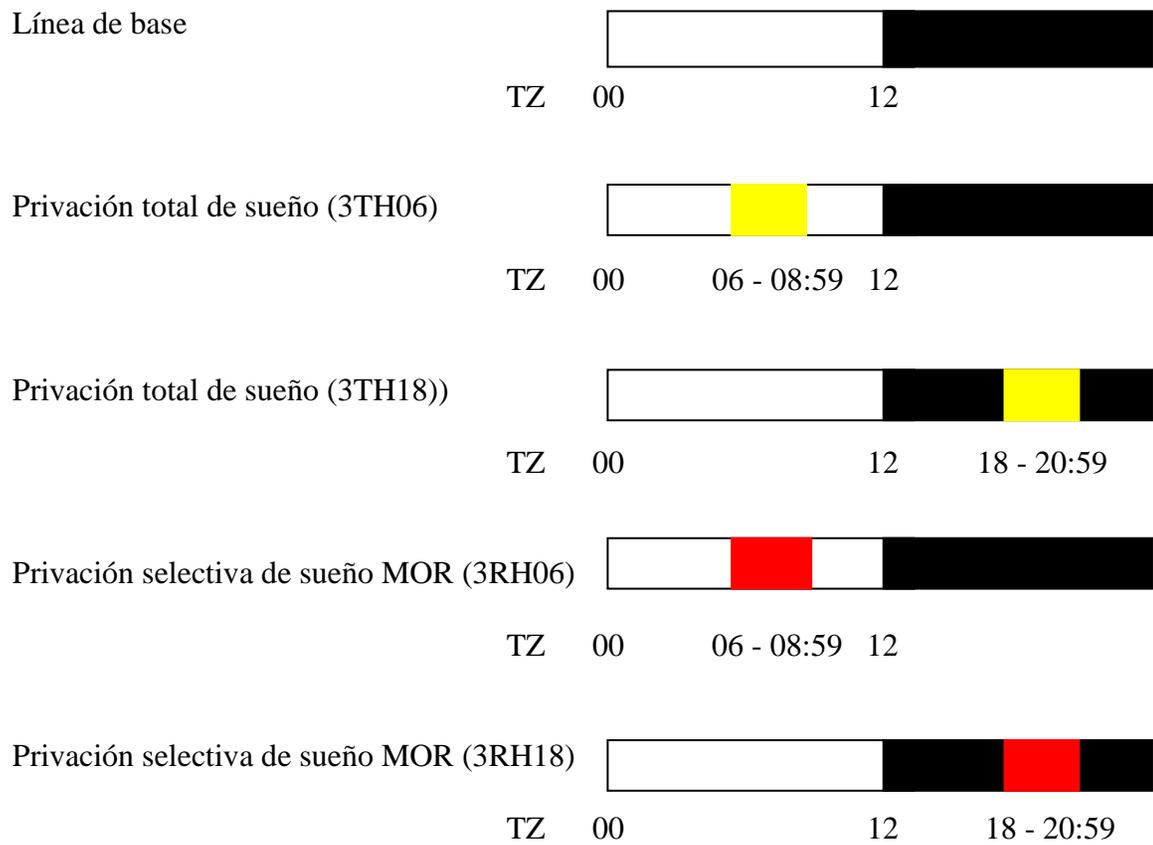


Figura 3. Esquema de protocolo experimental.

Análisis de resultados y estadísticas.

Las variables a medir fueron la cantidad de los estados del CSV, expresados en minutos. En ciertas comparaciones, se incluyó además, la relación sueño MOR/Tiempo Sueño Total (TST), expresada como porcentaje. Durante las privaciones selectivas, se considera el índice de transición a sueño MOR, que se define como el número de transiciones por cada 10 minutos de TST. Las variables sueño MOR/TST e índice de transición, sólo fueron calculadas para las horas que tenían más de 10% de TST.

La línea de base, para distribución temporal de los estados, se construyó para cada animal en base al promedio de 4 días no perturbados. En el caso particular de 3 animales, sólo se contó con 3 días basales, debido a dificultades técnicas con el sistema de adquisición de datos. Aquellas horas comprometidas en más de un 10% con estos artefactos en el EEG, fueron eliminadas del análisis.

Para analizar los cronotipos, se categorizó a los individuos de acuerdo a la proporción de la vigilia que ocurre en la fase de oscuridad, durante la línea de base. Se creó un “ranking” de acuerdo a la fracción de vigilia nocturna, estableciéndose un orden decreciente de nocturnidad. De acuerdo a ese “ranking”, se dividió el “pool” de animales en tres terciles (n=5 cada uno): Nocturno, Intermedio y Diurno (ver Tabla II).

Se utilizó la prueba ANOVA de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) en las siguientes situaciones:

1. Comparación entre terciles, considerando las cantidades totales de los estados del CSV, y de la relación sueño MOR/TST.
2. Comparación entre terciles, para cada uno de los estados del CSV, considerando además la relación sueño MOR/TST. Los estados fueron comparados con una resolución temporal en octantes (donde un octante corresponde a 3 horas de registro diario).
3. Comparación entre los octantes correspondientes a la distribución de cada estado del CSV, y de la relación sueño MOR/TST, dentro de cada tercil.

4. Comparación entre condiciones experimentales línea de base, privación selectiva de sueño MOR y privación total de sueño, dentro de cada fase circadiana. Se consideraron los octantes previo, durante y post-privación, para los estados del CSV y la relación sueño MOR/TST.

Se utilizó la prueba de Wilcoxon para rangos pareados ( $p < 0,05$ ) en las siguientes situaciones:

1. Comparación entre los octantes correspondientes a la distribución de cada estado del CSV, y de la relación sueño MOR/TST, dentro de cada tercil.
2. Comparación entre condiciones experimentales línea de base, privación selectiva de sueño MOR y privación total de sueño, dentro de cada fase circadiana. Se consideraron los octantes previo, durante y post-privación, para los estados del CSV y la relación sueño MOR/TST.
3. Comparación entre condiciones experimentales línea de base, privación selectiva de sueño MOR y privación total de sueño, entre cada fase circadiana. Se consideraron los octantes previo, durante y post-privación, para los estados del CSV y la relación sueño MOR/TST. Para las comparaciones entre los protocolos selectivos (3RH06 y 3RH18), y entre los protocolos totales (3TH06 y 3TH18), no se consideró el octante durante el protocolo.
4. Comparación de los índices totales de transición a sueño MOR, correspondientes a los períodos de privación selectiva de cada fase circadiana.

Se utilizó la prueba de correlación de Spearman ( $p < 0,05$ ) entre los estados sueño MOR post-privación y vigilia durante privación, y sueño MOR post-privación y sueño NMOR durante privación, considerando los protocolos total y selectivo durante la fase de oscuridad.

## RESULTADOS

### 1. Caracterización del CSV en *O. degus*.

#### 1.1 Caracterización del “pool” de individuos registrados.

En las Figuras 4.1 a 4.15, se presentan los días de registro de línea de base del “pool” de animales registrados, los que fueron ordenados en orden decreciente de nocturnidad.

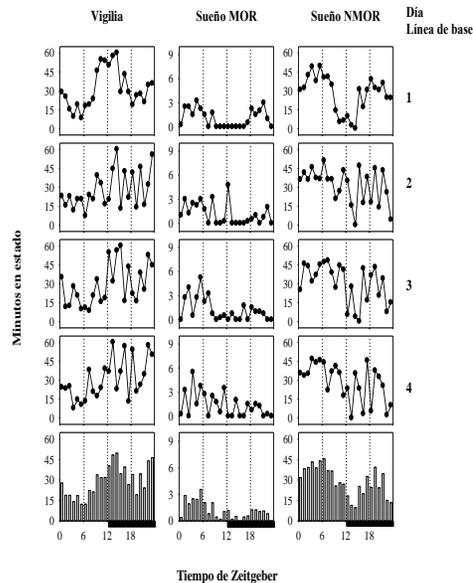


Figura 4.1. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 1. La expresión de los estados se presenta con una resolución temporal de una hora, y se expresa en minutos por hora. Los gráficos de círculos llenos corresponden a los días basales 1 a 4. El gráfico de barras corresponde al promedio de los días basales (línea de base). La abcisa corresponde a la hora experimental expresada como Tiempo de Zeitgeber. La barra oscura en la abcisa indica las horas de oscuridad. Los puntos ausentes en los días basales, corresponden a artefactos que comprometen más del 10% del tiempo de registro.

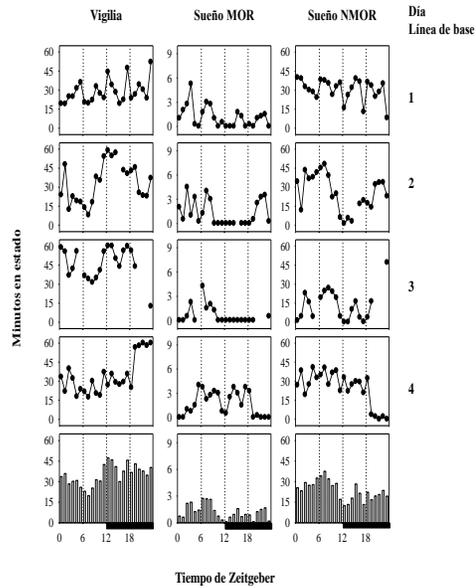


Figura 4.2. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 2 (ver leyenda en figura 4.1).

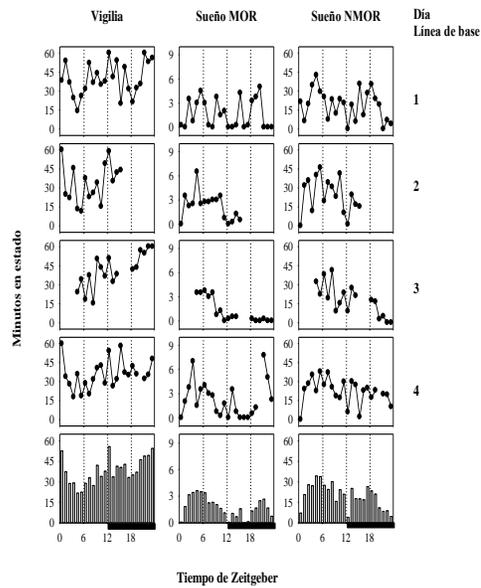


Figura 4.3. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 3 (ver leyenda en figura 4.1).

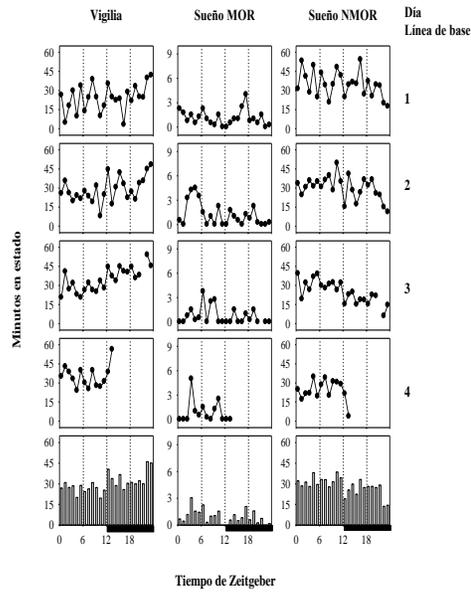


Figura 4.4. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 4 (ver leyenda en figura 4.1).

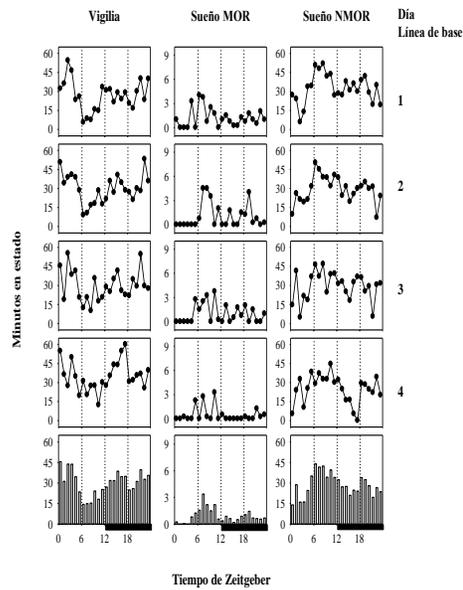


Figura 4.5. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 5 (ver leyenda en figura 4.1)

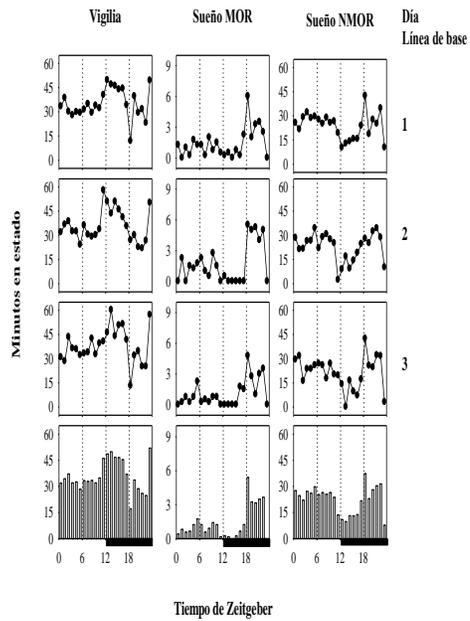


Figura 4.6. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 6 (ver leyenda en figura 4.1).

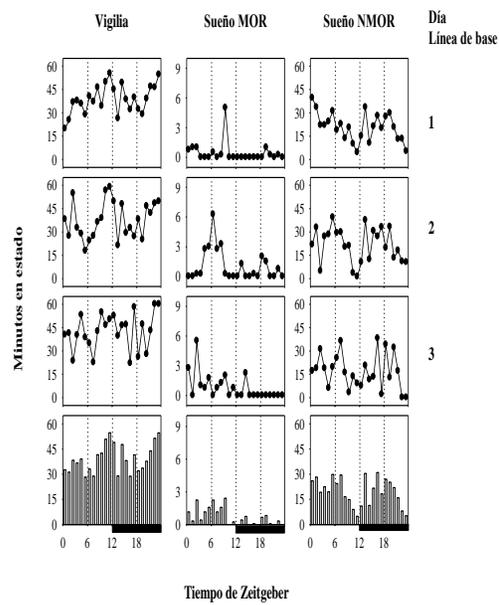


Figura 4.7. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 7 (ver leyenda en figura 4.1).

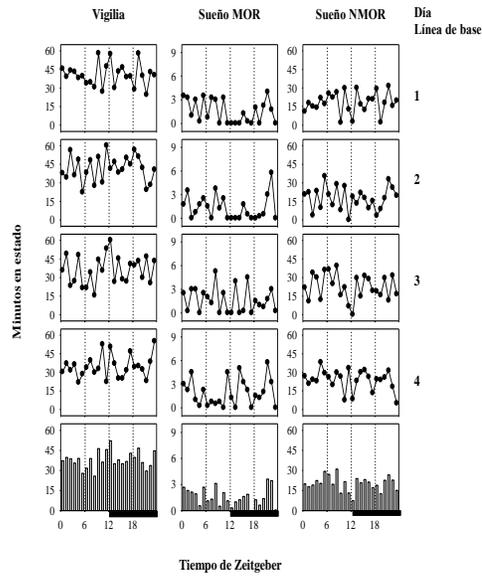


Figura 4.8. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 8 (ver leyenda en figura 4.1).

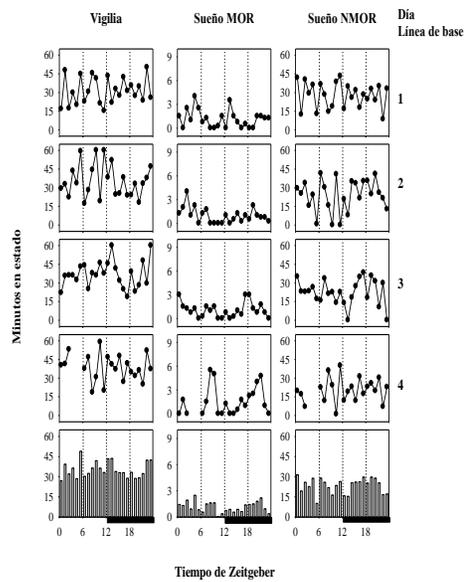


Figura 4.9. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 9 (ver leyenda en figura 4.1).

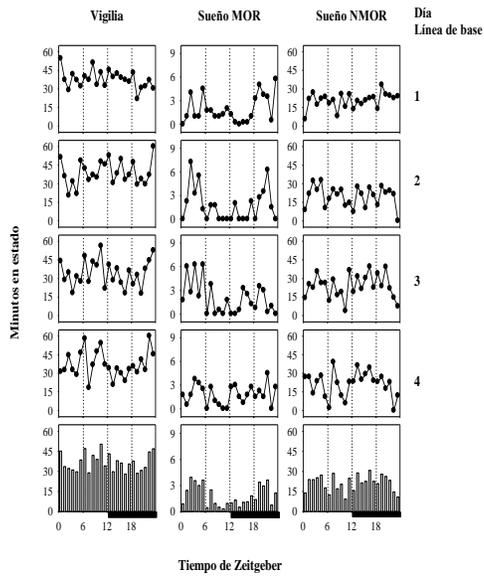


Figura 4.10. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 10 (ver leyenda en figura 4.1).

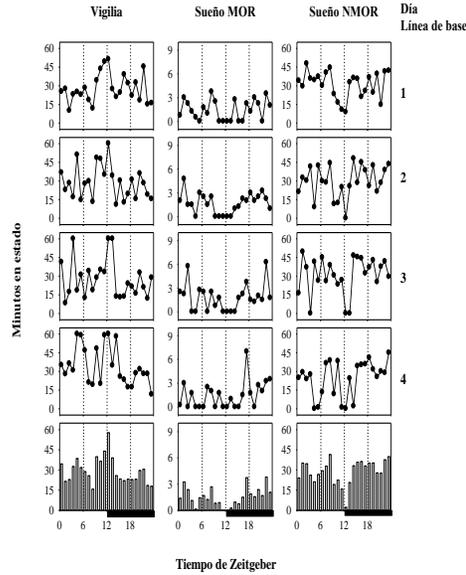


Figura 4.11. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 11 (ver leyenda en figura 4.1).

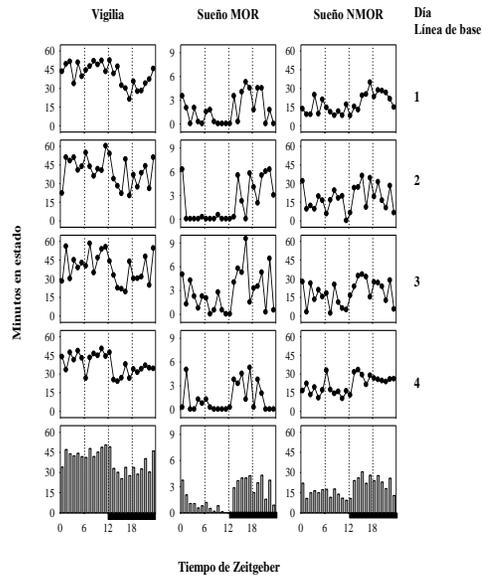


Figura 4.12. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 12 (ver leyenda en figura 4.1).

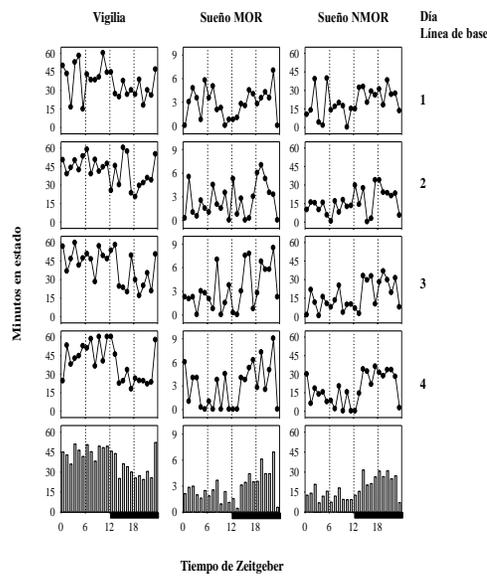


Figura 4.13. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 13 (ver leyenda en figura 4.1).

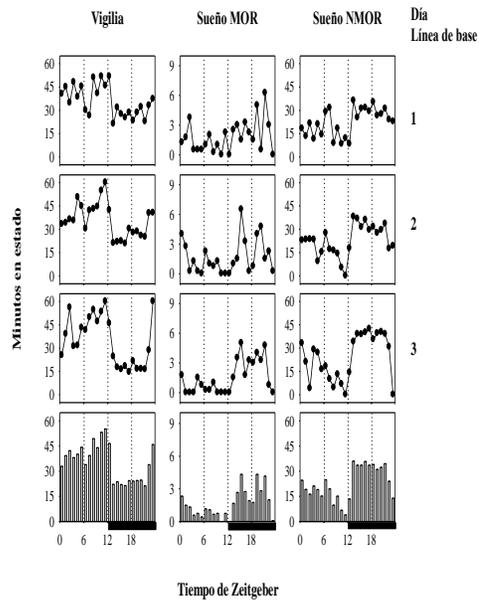


Figura 4.14. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 14 (ver leyenda en figura 4.1).

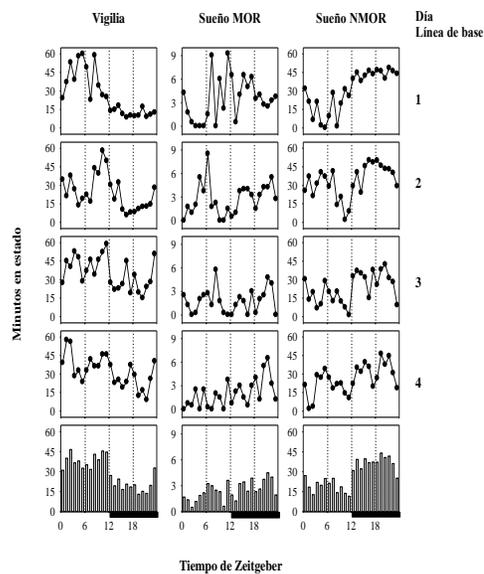


Figura 4.15. Distribución temporal de los tres estados del Ciclo Sueño Vigilia en el OD 15 (ver leyenda en figura 4.1).

Un resumen de la distribución de los estados del CSV en los individuos registrados puede verse en la Tabla II. La vigilia ocupó el 58% del tiempo de registro en los OD de la muestra. En general, es evidente la heterogeneidad en la distribución temporal de la vigilia en el tiempo. Consecuentemente, los estados de sueño MOR y sueño NMOR, que representan el 2,6% y el 39,4% del tiempo de registro, también presentan variaciones interindividuales en su distribución temporal.

Tabla II. Valores individuales de los estados del Ciclo Sueño Vigilia y fracción nocturna. Los valores corresponden al promedio individual obtenido en días basales. Los *O. degus* (OD, n=15) fueron ordenados de mayor a menor vigilia nocturna. Numeración de los animales es la misma que en la Figuras 4.1 a 4.15.

OD	VIGILIA (min)	SUEÑO MOR (min)	SUEÑO NMOR (min)	VIGILIA NOCTURNA (%)	SUEÑO MOR NOCTURNO (%)	SUEÑO NMOR NOCTURNO (%)
1	706.6	28.7	704.6	<b>62.6</b>	29.2	38.2
2	837.9	29.5	572.6	<b>57.3</b>	35.5	40.1
3	915.1	42.5	479.5	<b>56.7</b>	33.2	38.6
4	727.7	23.0	684.9	<b>56.5</b>	36.8	43.6
5	724.8	22.3	693.0	<b>53.8</b>	38.2	46.5
6	867.1	32.7	540.1	<b>52.8</b>	66.1	44.6
7	942.7	15.9	478.4	<b>52.6</b>	29.1	45.6
8	914.1	38.0	487.9	<b>51.5</b>	43.3	47.7
9	848.1	28.0	563.9	<b>50.1</b>	47.5	50.0
10	885.1	44.1	510.8	<b>48.9</b>	47.7	52.1
11	707.5	37.6	694.9	<b>47.2</b>	54.7	52.5
12	942.2	47.3	450.5	<b>43.7</b>	74.3	60.6
13	946.3	69.3	424.4	<b>42.4</b>	61.5	65.0
14	847.7	39.8	552.5	<b>39.5</b>	71.5	64.5
15	707.5	59.4	671.4	<b>34.2</b>	59.4	65.8
<b>TOTAL (min)</b>	<b>834.7 (24.3)</b>	<b>37.2 (3.6)</b>	<b>567.3 (25.4)</b>	<b>50.0</b>	<b>48.5</b>	<b>50.4</b>
<b>TOTAL (%)</b>	<b>58</b>	<b>2.6</b>	<b>39.4</b>			

En el patrón observado en el “pool” de animales (Figura 5), puede distinguirse un perfil bimodal crepuscular de la vigilia. Existe un agudo pico de vigilia que anticipa en una hora el encendido de la luz (TZ23). La vigilia alcanza en promedio el 75% del tiempo de registro en esa hora. En las horas posteriores (TZ00 y TZ08, en la fase de luz), la vigilia se mantiene en un nivel que no supera el 58% de la hora de registro. Tres horas antes del apagado de la luz comienza un segundo pico de vigilia que aumenta gradualmente hasta alcanzar su máximo en la primera hora de la fase de oscuridad (TZ12), donde vuelve a alcanzar niveles del 75% del tiempo de registro. Entre las horas TZ14 y TZ21, se observa un segundo valle en los niveles de vigilia, la cual no supera el 58% del tiempo de registro. Los mínimos de vigilia obtenidos se localizan en torno al medio día (TZ06) y la media noche (TZ18). Coincidente con estos mínimos de la vigilia, se localizan los máximos del sueño MOR y NMOR. En suma, en el “pool” de animales estudiados, ambos estados de sueño se concentran en dos fases de reposo, localizadas en fases opuestas en los períodos de luz y oscuridad. La bimodalidad de la vigilia, determina una bimodalidad de los estados de sueño.

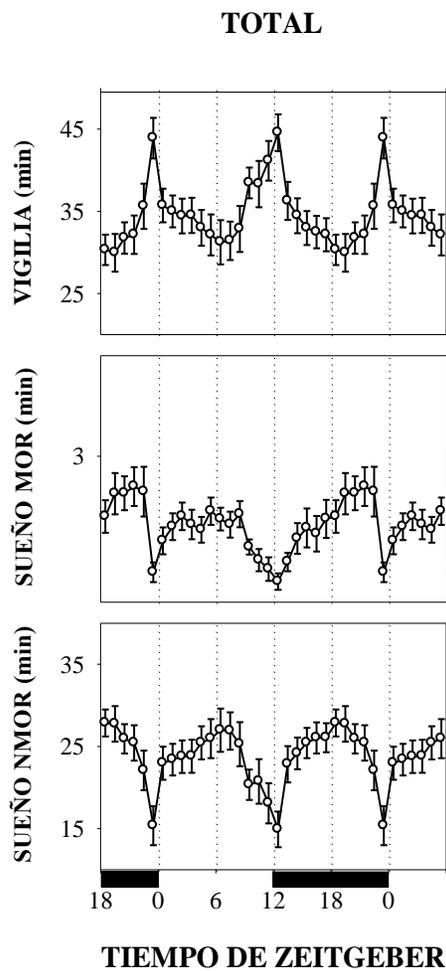


Figura 5. Distribución temporal de los estados del Ciclo Sueño Vigilia (en minutos) en el “pool” de individuos estudiados (n=15), con una resolución temporal de una hora. Los círculos corresponden a la expresión horaria de los estados en minutos (promedio y error estándar). La abcisa corresponde a la hora experimental expresada como Tiempo de Zeitgeber. La horas ZT18 a ZT00 y ZT00 a ZT06 fueron duplicados en cada figura para una mejor apreciación del perfil de cada estado. La barra oscura en la abcisa indica las horas de oscuridad.

## **1.2 Cronotipos del CSV.**

Con la finalidad de describir la diversidad de perfiles de distribución temporal de la vigilia (cronotipos), existentes en el *O. degus*, se dividió el “pool” de 15 animales en terciles (n=5 cada uno), de acuerdo al “ranking” de la fracción de vigilia nocturna individual (ver Tabla II). Los terciles obtenidos corresponden a los cronotipos Nocturno, Intermedio y Diurno.

Visto con una resolución temporal de una hora (Figura 6), el perfil temporal del CSV retiene algunas características antes descritas en la Figura 5. Se observan sendos picos de vigilia asociados a las transiciones oscuridad-luz y luz-oscuridad, que resultan muy evidentes en los cronotipos Nocturno e Intermedio. En el cronotipo Diurno, se observa un aumento anticipatorio de la vigilia al amanecer (TZ23), la que posteriormente se mantiene elevada hasta el prominente pico de vigilia de la transición luz-oscuridad (TZ09-TZ12). Complementariamente, el sueño MOR y NMOR presentan 2 mínimos asociados a ambas transiciones. Resulta evidente eso sí, que el mínimo observado del sueño MOR es más regular y prolongado en la transición vespertina (TZ11-TZ12), que la que ocurre en el encendido de la luz (TZ23-TZ00), la que se presenta como una breve inflexión en la curva del sueño MOR.

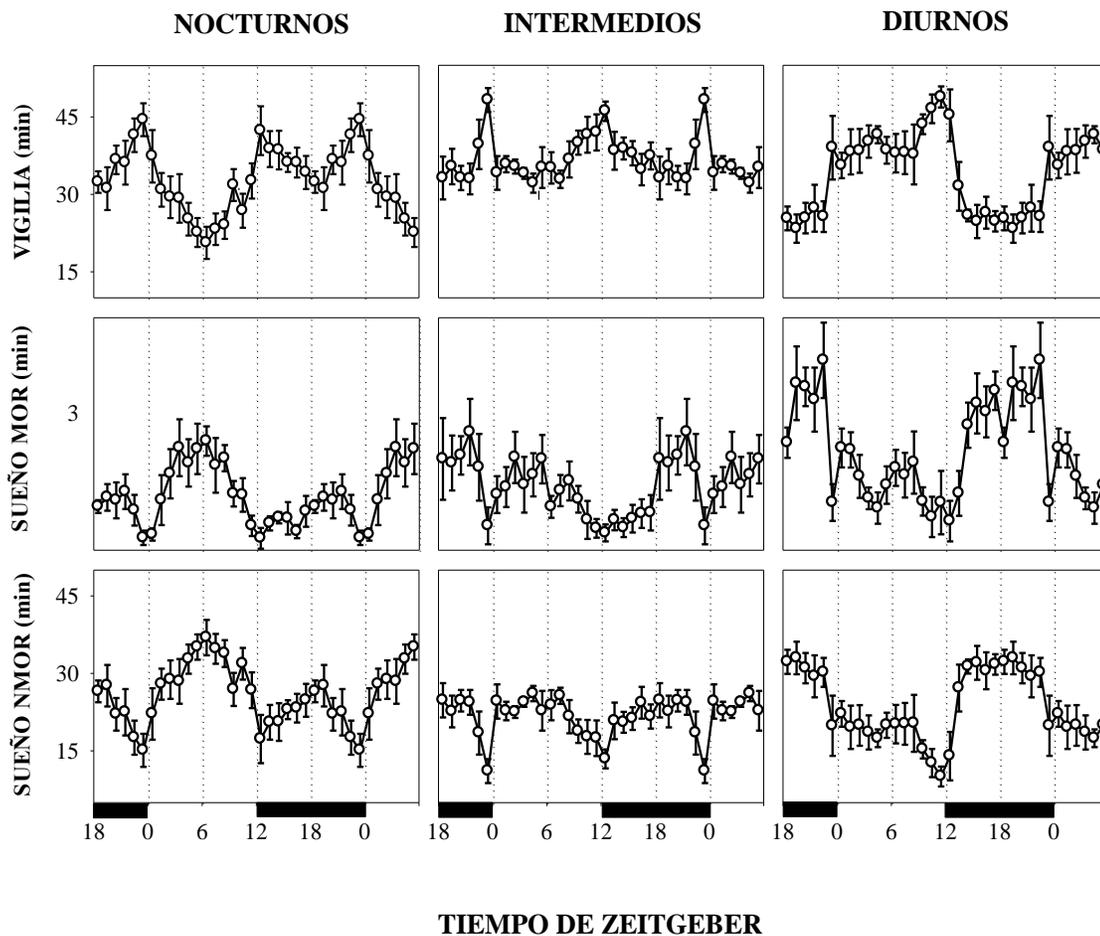


Figura 6. Organización temporal de los estados del Ciclo Sueño Vigilia según cronotipo Nocturno, Intermedio y Diurno. Los círculos corresponden al promedio y error estándar de las líneas de base promedio ( $n=5$ , por cronotipo). La hora experimental está expresada como Tiempo de Zeitgeber. La intervalos TZ18 a TZ23 y TZ00 a TZ05 fueron duplicados en cada figura para una mejor apreciación del perfil de cada estado. La barra oscura en la abcisa indica las horas de oscuridad.

Los cronotipos Nocturno, Intermedio y Diurno concentran el 60,8%, 51,6% y 39,4% de la vigilia en las horas de oscuridad (Tabla III). Las cantidades totales de vigilia y sueño NMOR diarias no muestran diferencias significativas entre los cronotipos. Como cabía esperar, sólo los cronotipos Diurno y Nocturno presentan diferencias noche vs. día significativas en todos los estados del CSV. El sueño MOR total diario es diferente entre cronotipos. No se observaron diferencias significativas en la cantidad de sueño MOR registrado durante las horas de luz entre los diferentes cronotipos. Por el contrario, la cantidad de sueño MOR registrado en horas de oscuridad del cronotipo Diurno, es 4,1 y 2,1 veces el observado en los cronotipos Nocturno e Intermedio, respectivamente.

Tabla III. Distribución de los estados del Ciclo Sueño Vigilia y de la relación sueño MOR/Tiempo Sueño Total, según cronotipo (Nocturno, Intermedio y Diurno), según fase de luz y oscuridad. Los estados están expresados como mediana en minutos (n=5 por cronotipo).

TERCIL					
NOCTURNO					
		VIGILIA	SUEÑO MOR	SUEÑO NMOR	SUEÑO MOR/TST
	LUZ	335,2#*	19*	371,1#*	4,5*
	OSCURIDAD	442,5#	8,5#	269	3#
	TOTAL	727.7	28,7 #	684.9	3.9
INTERMEDIO					
		VIGILIA	SUEÑO MOR	SUEÑO NMOR	SUEÑO MOR/TST
	LUZ	443.4	14.7	260.1	5
	OSCURIDAD	457.4	16.4	240.8	6.6
	TOTAL	885.1	32.7	510.8	5.7
DIURNO					
		VIGILIA	SUEÑO MOR	SUEÑO NMOR	SUEÑO MOR/TST
	LUZ	512,7*	17*	195,9*	6.4
	OSCURIDAD	334.9	35.1	356.6	7.4
	TOTAL	847.7	47.3	552.5	8.1

#=KRUSKAL-WALLIS p<0.05 (ENTRE TERCILES)

\*=WILCOXON p<0.05 (ENTRE FASES)

En la Figura 7 se compara la expresión de los estados del CSV de los cronotipos entre sí, con una resolución temporal de 3 horas (octantes). En general, se observa que en las horas de los crepúsculos matinal y vespertino, no hay diferencias significativas entre los cronotipos. En el caso de la vigilia, las diferencias entre los cronotipos se concentran en los octantes localizados hacia el medio día y la media noche. En el caso del sueño NMOR, sólo se observan diferencias durante la fase de luz, donde el cronotipo Diurno concentra su fase de actividad. El sueño MOR muestra diferencias sólo en la fase de oscuridad. Es llamativa la magnitud de la expresión de MOR en el tercil Diurno, en horas de la fase de oscuridad, respecto de la observada en los terciles Intermedio y Nocturno.

**COMPARACION TERCILES**

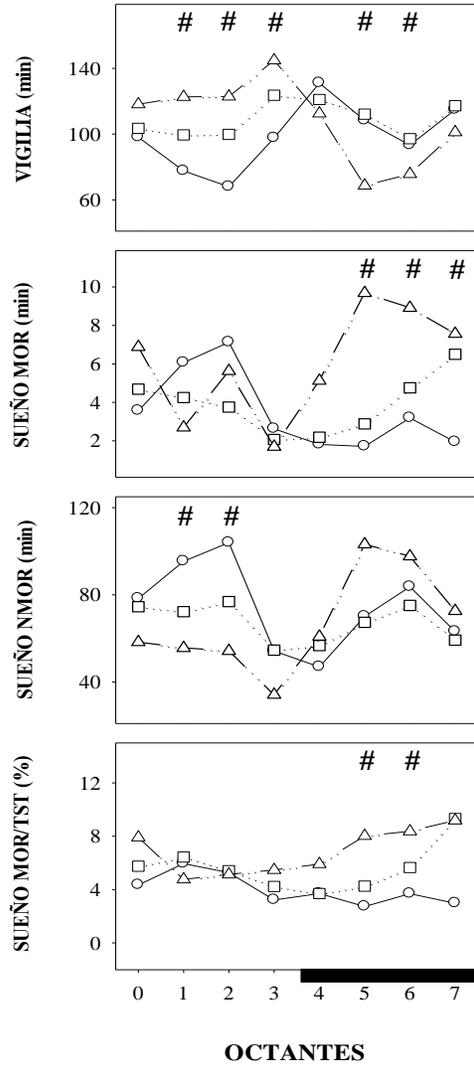


Figura 7. Organización temporal de los estados del Ciclo Sueño Vigilia (en minutos) y de la razón MOR/Tiempo Sueño Total (en %), según cronotipo Nocturno (círculos), Intermedio (cuadrados) y Diurno (triángulos). Los símbolos corresponden a las medianas de las líneas de base de cada cronotipo (n=5, por cronotipo). La resolución temporal es de tres horas (octante) . La barra oscura en la abcisa indica las horas de oscuridad. Los octantes en los que se observaron diferencias significativas entre los cronotipos (test de Kruskal-Wallis, #= $p < 0,05$ ).

En la Figura 8 se observa, con una resolución temporal de 3 horas, el perfil temporal diario de los estados del CSV, y de la relación sueño MOR/TST, al interior de cada cronotipo. La vigilia del cronotipo Nocturno, alcanza su máximo en el octante 4, el que es estadísticamente diferente de los octantes 2 y 3 (fase de luz) y 6 (fase de oscuridad). El mínimo se observa en el octante 2 (medio día), el que es diferente de todos los octantes de la fase oscura (4-7). En el cronotipo Intermedio, los octantes 3 y 4 (en torno a la transición luz-oscuridad), presentan diferencias con octantes de la fase de luz y de la fase de oscuridad, pero no con el octante 7 (previo al encendido de la luz), como cabe esperar al perfil bimodal descrito. En el cronotipo Diurno, el octante 3, que incluye el pico crepuscular vespertino descrito en la Figura 6, es diferente de todos los otros octantes, incluido el octante 7. En general, los octantes de la fase de luz son mayores que los de la fase oscura en cuanto al contenido de vigilia. El sueño NMOR del cronotipo Intermedio no presenta modulación discernible (Kruskal-Wallis  $p > 0.05$ ). La imagen del sueño NMOR en los cronotipos Nocturno y Diurno, es aproximadamente especular respecto a la de la vigilia. El sueño MOR, por su parte, muestra los valores más bajos en todos los cronotipos en relación a la transición luz oscuridad (octantes 3 y 4). Los máximos del sueño MOR del cronotipo Nocturno, se observan en los octantes 1 y 2, los del cronotipo Intermedio entre los octantes 6 y 0, y los del Diurno entre los octantes 5 y 7. La fracción sueño MOR/TST no muestra modulación en las 24 horas.

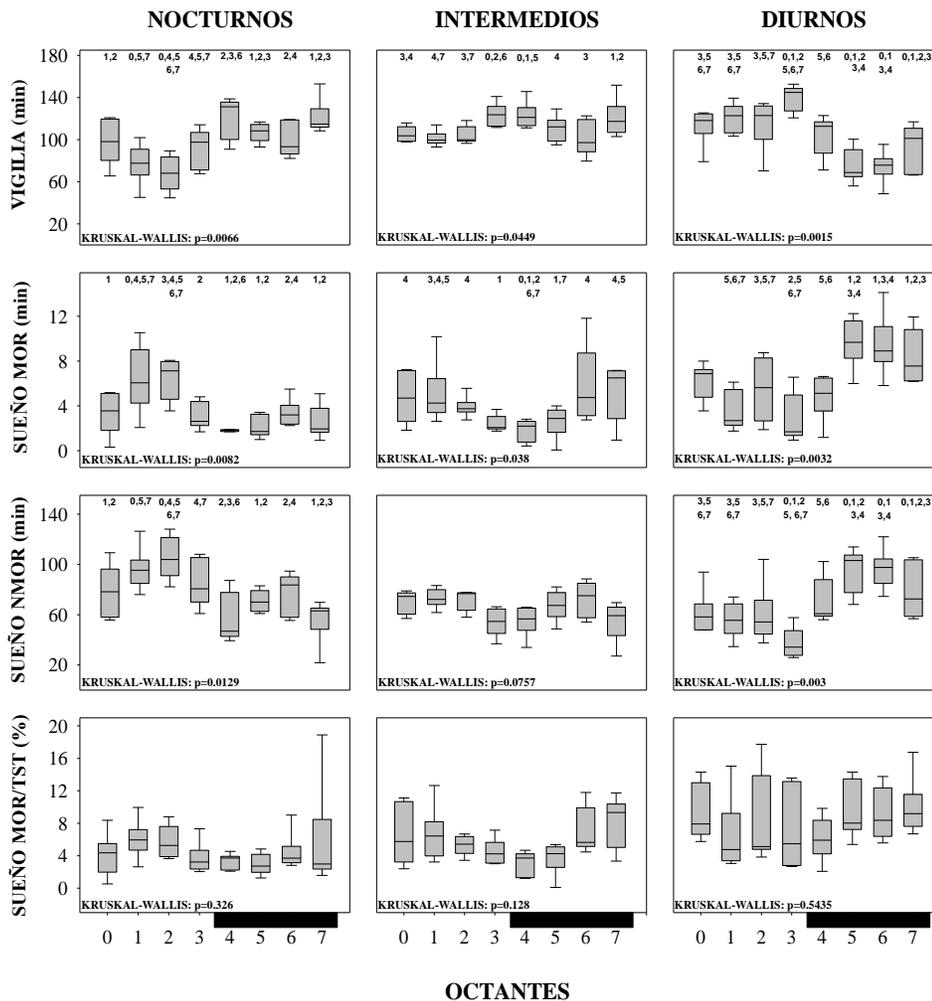


Figura 8. Distribución temporal de los estados del Ciclo Sueño Vigilia (en minutos), y de la relación sueño MOR/Tiempo Sueño Total (en %) según cronotipo Nocturno, Intermedio y Diurno. Los gráficos de *box & whiskers* representan los percentiles 5, 25, 50, 75 y 95 de los valores con una resolución temporal de tres horas (octante). La barra oscura en la abcisa delimita los octantes de fase de oscuridad. Se indica el nivel de significación estadística de la comparación entre octantes al interior de cada cronotipo (test de Kruskal-Wallis). Cuando el test de Kruskal-Wallis alcanzó niveles de significación estadística se realizó la comparación *p*-post-hoc entre octantes (test de Wilcoxon de dos colas,  $p < 0.05$ ). Los números sobre un *box* identifican los octantes con los cuales este octante es diferente para ese estado.

## 2. Caracterización de la homeostasis del sueño MOR en *O. degus*.

Un caso representativo, con los datos superpuestos de los cuatro protocolos de privación y la línea de base, se presenta en la Figura 9.

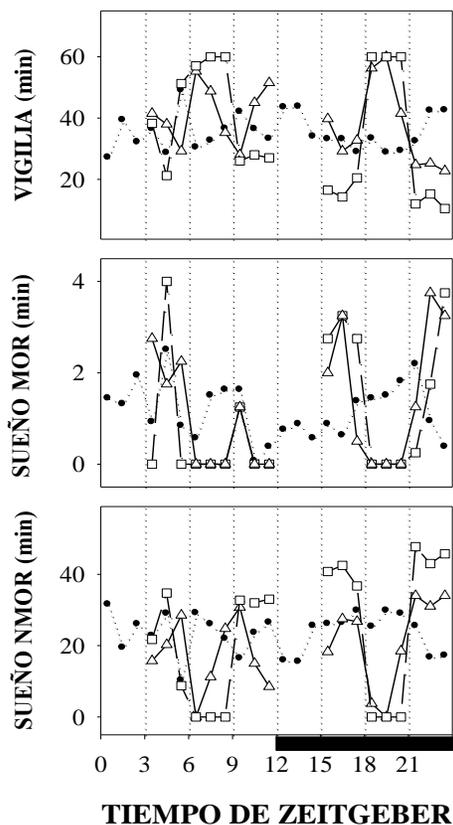


Figura 9. Resumen de los experimentos en un caso representativo, sometido a los cuatro protocolos de privación de sueño: total (cuadrados) y selectiva de sueño MOR (triángulos). La expresión de los estados se presenta con una resolución temporal de una hora y se expresa en minutos por hora. Se muestra la línea de base (círculos llenos), correspondiente a cada estado. En los cuatro protocolos, se consideran las 3 horas previas, durante y post-privación. La abcisa corresponde a la hora experimental expresada como Tiempo de Zeitgeber. La barra oscura en la abcisa indica las horas de oscuridad.

En la Tabla IV, se resumen los resultados obtenidos en los protocolos de privación de sueño. Sólo 10 animales completaron los cuatro protocolos del experimento. Como era esperado, en las horas antes de la privación no se observan diferencias significativas entre la línea de base y cada condición experimental. Los protocolos de privación selectivos y totales fueron igualmente eficientes en la eliminación del sueño MOR, en ambas fases del día, eliminándolo en aproximadamente 100%. Por el contrario, y como efecto esperado, la cantidad de sueño NMOR obtenido durante ambos protocolos de privación (selectivo y total) fue diferente, siendo significativamente mayor en los protocolos 3RH06 y 3RH18, que durante los protocolos 3TH06 y 3TH18, respectivamente. La selectividad de la privación no fue absoluta en los protocolos de privación selectiva, pues, como puede observarse, el sueño NMOR obtenido durante la privación selectiva es significativamente menor que su línea de base tanto en la fase diurna como nocturna. Como lo muestra la Tabla IV, posterior a la privación de sueño, se observa que la respuesta de los estados depende del procedimiento empleado (total vs. selectivo). Los experimentos realizados en la fase diurna no afectaron la expresión del sueño MOR, en tanto que el sueño NMOR aumenta significativamente respecto a la línea de base en las horas posteriores al protocolo 3TH06. Por su parte, los protocolos nocturnos se caracterizaron por una prominente respuesta del sueño MOR sólo después de la privación selectiva del sueño MOR (3RH18). La respuesta de la fracción MOR/TST resultó ser diferente entre los protocolos nocturnos, dónde el protocolo 3TH18 desencadenó una baja en esta variable respecto de su línea de base y del protocolo 3RH18.

Tabla IV. Línea de base y privaciones de sueño. Se comparan los protocolos de privación contra la línea de base correspondiente al horario de privación. Los estados están expresados como mediana en minutos, y la relación sueño MOR/Tiempo Sueño Total como mediana en % (n=10). Se consideran los octantes anterior, privación y recuperación.

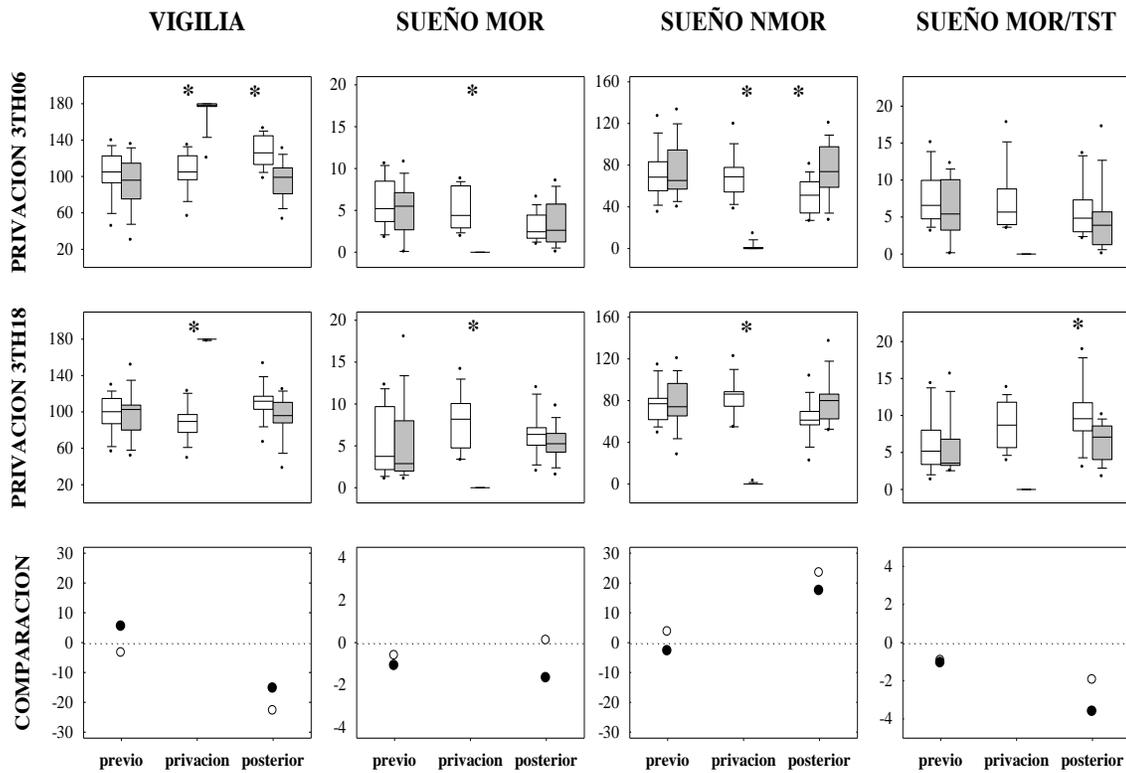
	OCTANTE	LINEA DE BASE	3RH06	3TH06	LINEA DE BASE	3RH18	3TH18
VIGILIA (min)	ANTERIOR	105.1	119	96	100.2	103.4	102.8
	PRIVACIÓN	105	128.3	178.1*#	89.6	110.1*	180*#
	RECUPERACIÓN	126	113.8	99.1*#	111.8	95.5*#	96
SUEÑO MOR (min)	ANTERIOR	5.2	2.5	5.5	3.8	4.8	2.9
	PRIVACIÓN	4.4	0*	0*#	8.2	0.4*	0*#
	RECUPERACIÓN	2.4	3.3	2.6	6.4	9.8*	5.3*#
SUEÑO NMOR (min)	ANTERIOR	68.6	55.9	65.3	77	70.4	74.1
	PRIVACIÓN	68.8	47*	0*#	86.2	44.5*	0*#
	RECUPERACIÓN	51.3	61.5	73.8*#	61.3	74.3	80
SUEÑO MOR/TST (%)	ANTERIOR	6.6	5.9	5.4	5.2	5.1	3.6
	PRIVACIÓN	5.7	0.5*	0*#	8.7	0.9*	0*#
	RECUPERACIÓN	4.9	4.9	3.9	9.6	11.7	7.1*#

#=K.WALLIS  $p < 0.05$

\*=WILCOXON  $p < 0.05$  (LINEA DE BASE vs PROTOCOLO)

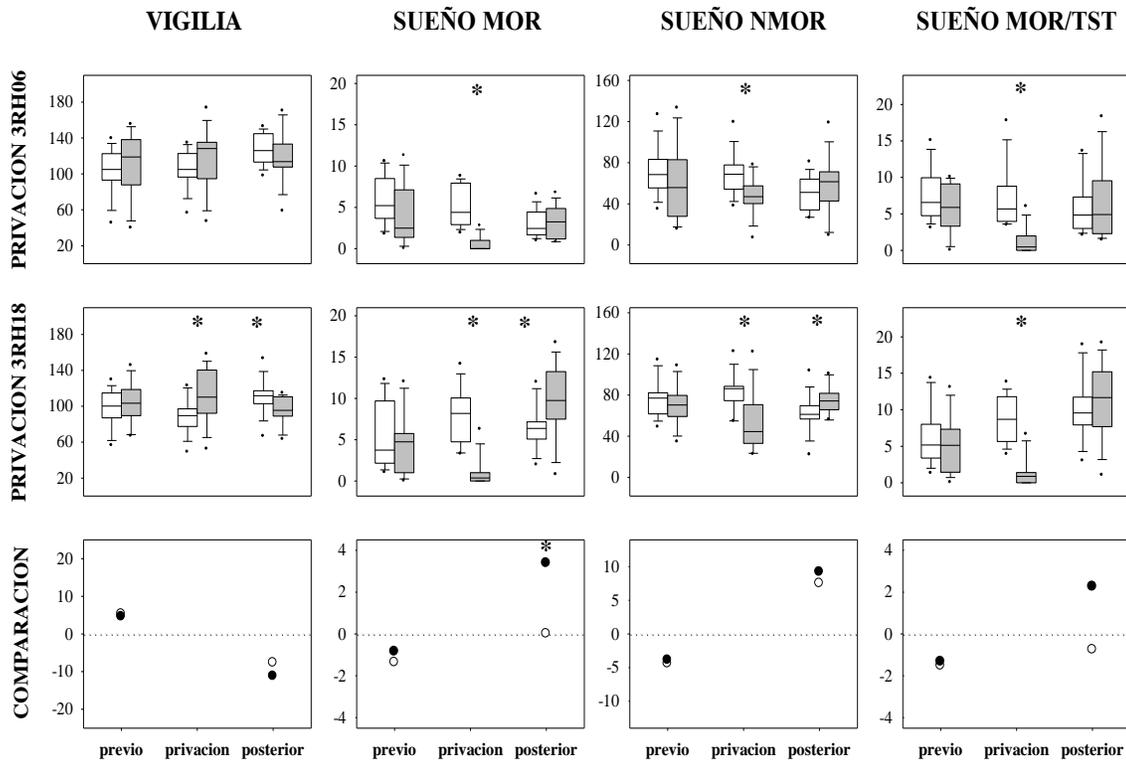
&=WILCOXON  $p < 0.05$  (PROTOCOLO TOTAL vs PROTOCOLO SELECTIVO)

En las Figuras 10 y 11 se comparan las respuestas a la privación total o selectiva de sueño MOR desde el punto de vista de la fase del día. No se distinguen diferencias al comparar los protocolos de privación total entre sí (Figura 10). Por el contrario, la privación selectiva de sueño MOR durante la fase de oscuridad, desencadenó una respuesta compensatoria del sueño MOR mayor que la obtenida en la fase de luz (Figura 11). Los protocolos 3RH06 y 3RH18 no lograron ser completamente selectivas, al observarse una disminución significativa del sueño NMOR durante las tres horas de privación en ambos horarios (Tabla IV y Figura 11). Posterior al protocolo 3RH18, se observa una respuesta de rebote de sueño NMOR simultánea al rebote de sueño MOR, obteniéndose una relación sueño MOR/TST no diferente a la línea de base en el octante posterior a la privación.



#### OCTANTE EXPERIMENTAL

Figura 10. Respuesta del Ciclo Sueño Vigilia a la privación total de sueño en dos fases diferentes del día. Los *box & whiskers* representan los percentiles 5, 25, 50, 75 y 95 de la distribución de valores de cada estado (en minutos) o la fracción MOR/Tiempo Sueño Total (en %), para la condición línea de base (*boxes* blancos) y privación total (*boxes* grises), (n=10). La línea superior corresponde a la privación total realizada en la fase de luz y la línea del medio a la realizada en la fase nocturna. Los datos son presentados con resolución temporal de tres horas (octantes previo, privación y posterior). La línea inferior representa la diferencia aritmética de cada protocolo con su línea de base respectiva (círculos blancos= 3TH06 y círculos negros= 3TH18). \* = test pareado de Wilcoxon de dos colas,  $p < 0,05$ .



#### OCTANTE EXPERIMENTAL

Figura 11. Respuesta del Ciclo Sueño Vigilia a la privación selectiva de sueño MOR en dos fases diferentes del día. Los *box & whiskers* representan los percentiles 5, 25, 50, 75 y 95 de la distribución de valores de cada estado (en minutos) o la fracción MOR/Tiempo Sueño Total (en %), para la condición línea de base (*boxes* blancos) y privación (*boxes* grises), (n=10). La línea superior corresponde a la privación realizada en la fase de luz y la línea del medio a la realizada en la fase nocturna. Los datos son presentados con resolución temporal de tres horas (octantes previo, privación y posterior). La línea inferior representa la diferencia aritmética de cada protocolo con su línea de base respectiva (círculos blancos= 3RH06 y círculos negros= 3RH18). \* = test pareado de Wilcoxon de dos colas,  $p < 0.05$ .

El número de intervenciones requeridas para impedir la ocurrencia de sueño MOR, es un índice de la presión homeostática acumulada durante la privación selectiva. En la Figura 12, se muestra el curso temporal de la incidencia horaria de transiciones a sueño MOR durante las privaciones selectivas 3RH06 y 3RH18. En el curso de la privación realizada durante la fase de luz (3RH06) el número de intervenciones no mostró una tendencia al incremento. Sólo durante la privación selectiva desarrollada durante la fase de oscuridad (3RH18), se observa una clara tendencia al incremento en el número de intervenciones entre la primera y la última hora de privación selectiva.

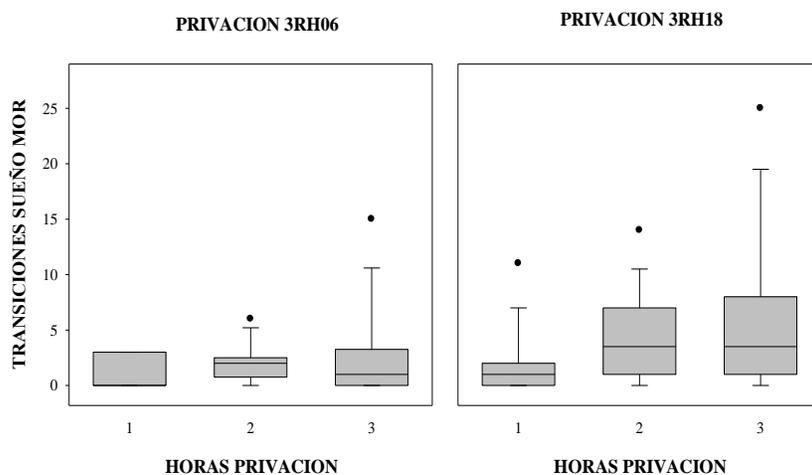


Figura 12. Progresión temporal de las transiciones a sueño MOR (intervenciones por hora), durante las tres horas de privación selectiva (3RH06 y 3RH18). Los gráficos de *box & whiskers* representan los percentiles 5, 25, 50, 75 y 95 de la distribución de valores de transición a sueño MOR de cada individuo (n=9, para 3RH06; n=10, para 3RH18), con una hora de resolución temporal (abcisa).

Así mismo, al comparar el índice de transiciones al sueño MOR obtenidas durante los protocolos 3RH06 y 3RH18 (Figura 13), se observa que éste fue más alto en el protocolo nocturno (test pareado de Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). Sólo 8 individuos cumplieron con los criterios requeridos para el cálculo del índice de transiciones en ambos protocolos.

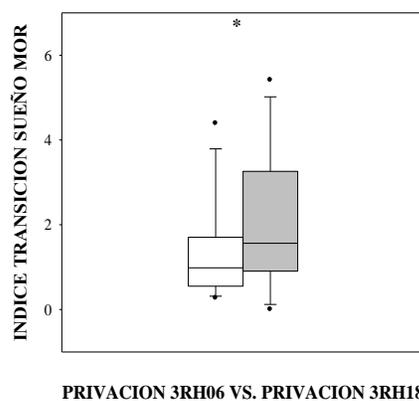


Figura 13. Índices de transición a sueño MOR durante los protocolos 3RH06 (*box* blanco) y 3RH18 (*box* gris). Los *box & whiskers* representan los percentiles 5, 25, 50, 75 y 95 de la distribución de valores de índice total de transición de cada individuo ( $n=8$ ). \* = test pareado de Wilcoxon de dos colas,  $p < 0.05$ .

Finalmente, en la Figura 14 se evalúa la relación entre la cantidad de vigilia y sueño NMOR acumulados durante los protocolos de privación obtenidos en la fase de oscuridad, y la expresión de sueño MOR en el octante posterior a la privación. La correlación no-paramétrica de Spearman demostró que, a mayor vigilia durante la privación, menor la expresión de MOR post-privación ( $\rho=-0,4568$ ;  $p<0,05$ ). A la inversa, a mayor sueño NMOR, la expresión de sueño MOR post-privación fue más alta ( $\rho=0,5236$ ;  $p<0,05$ ).

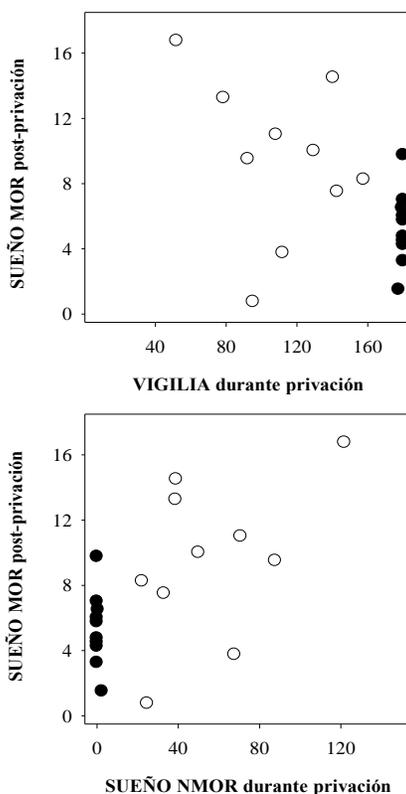


Figura 14. Relación entre los estados de vigilia y sueño NMOR y la respuesta de sueño MOR post-privación. Cada protocolo contribuye con 10 valores, donde los círculos llenos corresponden a 3TH18, y los blancos a los de 3RH18.

## DISCUSION

### 1. Caracterización del CSV en *O. degus*.

#### 1.1 Patrón crepuscular del CSV.

Uno de los principales resultados obtenidos en esta memoria, es la caracterización cronobiológica del CSV en la especie *O. degus*, en condiciones basales. Disponiendo de un grupo de 15 animales, se obtuvo el perfil de distribución temporal de cada uno de los estados del CSV (vigilia, sueño MOR y sueño NMOR), comprobándose la gran variabilidad con la que estos se alternan durante el transcurso del día. Se establecieron las proporciones en que se manifiestan dentro del ciclo: 58% de vigilia, 2,58% de sueño MOR y 39,42% de sueño NMOR. En concordancia con lo señalado, trabajos previos postularon la existencia de una distribución altamente fragmentada de los estados del CSV. Es así como, se calcularon los siguientes porcentajes: 62,6% de vigilia, 3,4% de sueño MOR y 34% de sueño NMOR (Kas y Edgar, 1998).

El patrón bimodal de la vigilia, se transformó en un común denominador de los individuos estudiados. En el perfil típico obtenido en la muestra de *O. degus* silvestres estudiados, se observa que la vigilia está asociada a las horas de encendido y apagado de la luz, mientras que los estados de sueño MOR y NMOR se concentran en las fases entre los picos crepusculares de vigilia. Particularmente regular en dicha muestra, fue la presencia de un importante pico de vigilia que anticipa en unas tres horas la transición luz-oscuridad (pico vespertino), en contraposición al pico anticipatorio de la transición oscuridad-luz (pico matinal), el cual resultó ser más efímero, con una hora de duración aproximada (TZ=23).

Es posible asimilar estos resultados a los presentados por otros autores en la literatura. En estudios realizados en *O. degus* obtenidos en cautiverio, Kas y Edgar (1998) describieron la existencia de un patrón crepuscular en el CSV. Así mismo, la actividad en rueda, la temperatura corporal y la actividad locomotora describen un marcado patrón crepuscular en laboratorio (Labyak *et al.*, 1997; Kas y Edgar, 1998; García-Allegue *et al.*, 1999). Kas y Edgar (1999a) demostraron que el patrón crepuscular se preserva bajo diversas manipulaciones del fotoperíodo y de estímulos no-fóticos como la actividad en rueda.

En estudios de campo se ha observado la ocurrencia de bimodalidad crepuscular en *O. degus*, que ocurre especialmente en el período de verano. En meses de invierno, se ha descrito un patrón unimodal centrado al medio día. Dichas observaciones, atribuyen el patrón crepuscular estival a una estrategia etológica tendiente a evitar la exposición al calor del medio día en verano (Kenagy *et al.*, 2002). Los presentes resultados obtenidos en poblaciones nativas mantenidas en aislamiento, bajo condiciones controladas de luz-oscuridad, temperatura y alimentación *ad libitum*, muestran que el patrón crepuscular, en que la vigilia anticipa las transiciones de luz y oscuridad, es determinado por mecanismos cronobiológicos.

## **1.2 Cronotipos en *O. degus*.**

En atención a la diversidad observada en los patrones de línea de base del CSV, en el presente estudio, se diseñó una estrategia para caracterizar los cronotipos presentes en el *O. degus*, a partir de los registros polisomnográficos. Para ello, se dividió la población estudiada en terciles: Nocturno, Intermedio y Diurno, de acuerdo a la proporción de vigilia nocturna de cada individuo. Cada tercil (cronotipo) presentó perfiles característicos de distribución temporal de la vigilia, mostrando preferencia por estar activos en períodos determinados del día, conservando un patrón bimodal crepuscular, particularmente, en los cronotipos Nocturno e Intermedio.

Los cronotipos definidos de esta forma presentan cantidades similares de vigilia y sueño NMOR en las 24 horas. Existen diferencias significativas en la cantidad total de sueño MOR, siendo mayor observado en el cronotipo Diurno. El rasgo distintivo entre cronotipos, fue la distribución de los estados en las diferentes fases del ciclo luz-oscuridad. Existen diferencias significativas en la distribución noche vs. día de los tres estados del CSV en los cronotipos Nocturno y Diurno. El cronotipo Nocturno concentra su vigilia en las horas de oscuridad y los estados de sueño NMOR y MOR en las horas de luz. A la inversa, el cronotipo Diurno prefiere concentrar su vigilia en las horas de luz, particularmente en torno al prominente pico localizado hacia el final del día, y concentra su sueño MOR y NMOR en las horas de oscuridad. Como se señaló, existe una marcada diferencia en la cantidad total de sueño MOR entre cronotipos. Mientras la cantidad total de sueño MOR es similar entre los cronotipos durante el día, en la fase de oscuridad el sueño MOR del cronotipo Diurno es varias veces mayor que el que presentan los otros cronotipos.

Con respecto a las diferencias interindividuales del *O. degus*, existe controversia en la literatura referida a la clasificación de los cronotipos en este roedor. Existen autores como Labyak *et al.* (1997) y Refinetti (1999), que sostienen la categoría del *O. degus* como un mamífero de hábitos diurnos, con patrón crepuscular. Labyak *et al.* (1997) y García-Allegue *et al.* (1999), basados en estudios de temperatura corporal y de actividad en rueda, clasificaron tres patrones básicos. En directa analogía a lo observado en humanos (Horne y Östberg, 1976), definieron los cronotipos: *morning type* y *evening type*, y una categoría intermedia. En el primero se encontrarían aquellos individuos que presentan mayor cantidad de actividad durante las horas de la transición oscuridad-luz, mientras que el segundo estaría formado por los animales que concentran su actividad en torno al apagado de la luz. Kas y Edgar (1999a), por su parte, clasificaron los *O. degus* de su muestra en base a la predilección nocturna o diurna de actividad. Dicha clasificación se realizó en base a la actividad locomotora detectada por sensores intraperitoneales.

Como ha sido señalado, la presente clasificación de cronotipos se basa en la organización temporal de los estados del CSV, basados en el estudio polisomnográfico (EEG, EMG y actividad locomotora). Otros autores han empleado metodologías basadas en la actividad locomotora, temperatura corporal, actividad en rueda, o una combinación de las antes mencionadas. Labyak *et al.* (1997), Kas y Edgar (1999a) y Refinetti (1999), utilizaron transmisores intraperitoneales para medir actividad y temperatura corporal, mientras que García-Allegue *et al.* (1999), incorporaron también registros de actividad en rueda para cuantificar la actividad. Este trabajo constituye el primer intento por describir los cronotipos en el *O. degus*, desde el punto de vista de la organización temporal del CSV. Si asimilamos la vigilia de los presentes registros a datos de actividad, existe coincidencia con Kas y Edgar (1999a) en cuanto a que existen *O. degus* con predilección nocturna de actividad, en contradicción a otros autores que sostienen a este roedor como especie diurna. Por último, la especie en estudio resulta de particular interés cronobiológico por cuanto no existen documentado en la literatura algún otro mamífero no humano que presente cronotipos en su CSV.

## **2. Caracterización de la homeostasis del sueño MOR en *O. degus*.**

### **2.1 Respuesta homeostática del sueño MOR en *O. degus* y procesos circadianos.**

Con el objetivo de evaluar el factor circadiano en la respuesta homeostática del sueño MOR, en el presente estudio se realizaron privaciones de sueño de corto plazo en fases opuestas del ciclo luz-oscuridad. Estas fueron localizadas en horas del día (TZ06) y de la noche (TZ18), que correspondieron a los períodos de reposo que ocurren entre los picos crepusculares de vigilia. Sólo la privación selectiva de 3 horas realizada durante la noche (3RH18), desencadenó una respuesta homeostática consistente, la cual pudo ser evaluada mediante: 1) El incremento de los intentos de sueño MOR (intervenciones), durante las 3 horas de privación; y 2) El aumento de las cantidades de sueño MOR por sobre sus niveles de línea de base, durante las 3 horas post-privación (“rebote de sueño”). Además, el índice de transiciones a sueño MOR, fue mayor en el protocolo 3RH18, en comparación con 3RH06. De esta manera, se establecen diferencias en la respuesta homeostática del sueño MOR obtenida en diferentes fases circadianas.

La cronobiología del CSV se encuentra comandada por dos procesos: los mecanismos homeostáticos y los mecanismos circadianos. Siendo ambos procesos regulados independientemente, estos interactúan de manera especie específica para configurar el CSV en mamíferos. En diversas especies estudiadas, se describe un aumento monótonico de las transiciones a sueño MOR (intervenciones) durante la privación selectiva de sueño MOR. La presión aumenta hasta llegar a un cierto nivel de saturación (“efecto cielo”) (Franken, 2002). Las intervenciones realizadas para impedir la ocurrencia de sueño MOR durante la privación selectiva, son un índice de la propensión o presión homeostática de dicho estado (Benington *et al.*, 1994; Endo *et al.*, 1997; Ocampo-Garcés *et al.*, 2000; Werth *et al.*, 2002). Posterior al procedimiento de privación, la presión al sueño MOR se disipa en forma de “rebote de sueño MOR”. El concepto de “rebote de sueño” MOR, se entiende como la liberación de la presión al sueño acumulada durante el período de privación, el cual sería un

mecanismo que permite recuperar las cantidades de sueño perdidas durante un período de privación de dicho estado, como ha sido descrito en humanos, gatos y ratas (Benington *et al.*, 1994).

Se ha establecido la existencia de una modulación circadiana sobre el sueño MOR en el humano, el cual alcanza sus mayores niveles durante la última mitad de la noche, en estrecha relación con el punto más bajo (nadir) de temperatura corporal (Dijk y Czeisler, 1995). Además, este estado se concentra durante la fase de reposo en las especies de mamíferos estudiados (humanos y ratas), presentando un perfil de distribución unimodal (Vivaldi *et al.*, 1994b; Endo *et al.*, 1998; Wurst y Edgar, 2000; Franken, 2002). Existen fuertes evidencias con respecto a la regulación circadiana de la respuesta homeostática del sueño MOR, en las especies mencionadas anteriormente. Protocolos de privación selectiva de sueño MOR en ratas, realizados en distintas fases circadianas, confirman la existencia de un importante control circadiano sobre el sueño MOR, el cual favorecería el proceso de recuperación de dicho estado a ciertas horas del día (Wurst y Edgar, 2000). Evidencias obtenidas en humanos sugieren que la homeostasis del sueño MOR actúa sinérgicamente con los mecanismos circadianos en la fase de reposo nocturno (Endo *et al.*, 1998) y no así en la fase diurna (Werth *et al.*, 2002).

Estudios anteriores en *O. degus* (Kas y Edgar, 1999b), mediante la privación total de sueño de duración prolongada, centrada en la fase de oscuridad, demostraron que la respuesta homeostática del sueño NMOR es interferida en la hora del final de la noche, por un proceso de naturaleza circadiana que promueve la vigilia. La vigilia asociada al amanecer, interfiere con la duración y consolidación del sueño post-privación. De manera análoga, podríamos suponer que la ausencia de respuesta homeostática del sueño MOR hacia el final de la fase de luz (posterior al protocolo 3RH06) es interferida por el proceso circadiano que promueve la vigilia asociado al pico de vigilia vespertino. Los presentes resultados sugieren que, el proceso circadiano que promueve la vigilia en el pico matinal (que ocurre al final de la noche), es más débil que el pico vespertino, permitiendo un rebote consistente de sueño MOR sólo en la fase de oscuridad.

Alternativamente, el sistema circadiano del *O. degus* interactúa sinérgicamente con los homeostáticos sólo en la fase nocturna. Lo anterior podría explicar la llamativa abundancia de sueño MOR en el cronotipo Diurno de la especie, donde coincidirían en el tiempo la acción sinérgica de la modulación circadiana promotora del MOR, y el de modulación homeostática. En tal caso, la unimodalidad de la regulación circadiana del sueño MOR en el *O. degus* contrastaría con la marcada modulación bimodal de la vigilia. En suma, considerando las diferencias observadas en la eficiencia de los mecanismos homeostáticos del sueño MOR según la fase circadiana, es posible apoyar un modelo unimodal de regulación homeostática de sueño MOR en el *O. degus*, sobre el cual, el sistema circadiano ejerce un importante control.

## **2.2 Interacción del sueño MOR con los otros estados del CSV.**

Con el objetivo de evaluar la interacción entre la homeostasis del sueño MOR y los otros estados del CSV en el *O. degus*, se realizaron privaciones totales de sueño y selectivas de sueño MOR en las mismas fases del ciclo luz-oscuridad. La premisa que subyace al diseño es que en ambas condiciones existe una pérdida cercana al total en la expresión de sueño MOR por un tiempo controlado, en contraposición a lo que ocurre con el sueño NMOR, el cual se expresará de manera variable en los protocolos de privación selectivos y de privación total (Ocampo-Garcés *et al.*, 2000). Los resultados obtenidos muestran que el sueño MOR rebota sólo en respuesta a un protocolo de privación selectiva de sueño MOR. Además, se documentó una correlación positiva entre los niveles de sueño MOR post-privación y los del sueño NMOR observados durante la privación.

Benington y Heller (1994) postularon que el sueño MOR se encuentra funcional y homeostáticamente relacionado con el sueño NMOR. Esto significa, que el sueño MOR ocurre en respuesta a la expresión de sueño NMOR, y que se acumularía una propensión a sueño MOR durante los episodios de sueño NMOR, la cual sería descargada regularmente,

permitiendo una expresión periódica de los episodios de sueño MOR a lo largo del ciclo de sueño.

Diversos estudios han sometido a prueba el modelo propuesto por Benington y Heller (Rechtschaffen *et al.*, 1999; Franken, 2002). Al comparar protocolos de privación total de sueño y selectiva de sueño MOR en la rata, se han reportado rebotes de sueño MOR comparables en magnitud, en ambas condiciones (Endo *et al.*, 1997; Ocampo-Garcés *et al.*, 2000). En particular, Ocampo-Garcés *et al.* (2000), después de realizar 3 diferentes protocolos de privación de sueño en ratas, durante 3 horas, que diferían en la cantidad de sueño NMOR permitido, obtuvieron índices de transición al MOR y rebotes de sueño MOR semejantes entre sí en la rata. Los resultados antes mencionados, sugieren fuertemente que el aumento de la presión a sueño MOR, junto con su subsecuente rebote, estarían en función de la ausencia de sueño MOR, en vez de ser consecuencia de un efecto específico del sueño NMOR (Franken, 2002).

Los resultados obtenidos en la presente memoria, sugieren una relación específica del sueño NMOR y el sueño MOR en el *O. degus*. Resultados obtenidos en humanos, han dado el principal sustento al modelo de Benington y Heller. Privaciones totales de sueño de 24 horas fueron seguidos por rebotes compensatorios exclusivamente de sueño NMOR. Sólo privaciones totales de sueño de más de 48 horas fueron acompañados por débiles rebotes de sueño MOR. Privaciones totales de sueño de 6 y 12 horas, realizadas durante la fase activa de la rata (horas de oscuridad), fallaron en obtener rebote compensatorio de sueño MOR (Benington y Heller, 1994). Así mismo, y en coincidencia con los presentes datos, Kas y Edgar (1999b) obtuvieron respuesta compensatoria sólo de NMOR, después de privaciones totales de 6 y 12 horas realizadas en la fase de oscuridad en *O. degus*.

La principal dificultad para la interpretación de los presentes datos radica en la naturaleza compleja de la relación entre la respuesta homeostática del sueño MOR y el sueño NMOR. Es sabido que intervalos prolongados de vigilia desencadenan un aumento específico en la energía de la banda de ondas Delta (0.5 a 4 Hz) del EEG del sueño NMOR, o Sueño de

Ondas Lentas (SOL), que en el humano corresponde a las etapas III y IV del sueño NMOR. Este subestado del NMOR, ocurre siempre de manera inmediata a la privación total, y su duración e intensidad (espectro de poder) son función de la duración de la vigilia previa acumulada (Rechtschaffen *et al.*, 1999). Es sabido también que, la expresión de ondas Delta en el EEG, ofrece resistencia a las transiciones al sueño MOR, es decir, la probabilidad de transitar al sueño MOR disminuye cuando en el EEG del sueño NMOR predominan las ondas Delta (Franken, 2002). Por lo tanto, después de un protocolo de privación total de sueño, que por definición permite sólo la ocurrencia de vigilia, la expresión del sueño MOR está siempre enmascarada (bloqueada) por la fuerte expresión de ondas Delta. Los rebotes de sueño MOR son habitualmente detectables cuando la expresión de ondas Delta decrece lo suficiente para permitir transiciones al sueño MOR. La latencia al sueño MOR depende de la dinámica de caída de las ondas Delta en el curso de las horas de recuperación post-privación, la que puede ser modelada como una exponencial decreciente, con una constante de tiempo especie-específica. En la rata, la constante de tiempo de caída de las ondas Delta durante el sueño NMOR, es tres veces mayor que en el humano (Franken, 2002), lo que permite un retorno más rápido a los niveles basales. La dinámica de las ondas Delta en el *O. degus* es desconocida. En las horas posteriores a los protocolos 3TH06 y 3TH18, es posible detectar un aumento del sueño NMOR respecto a la línea de base. Es posible que, 3 horas de privación total de sueño, desencadenen un aumento específico de ondas Delta en el sueño NMOR del *O. degus*, que enmascare el rebote del sueño MOR en el intervalo de 3 horas posterior a la privación.

El objetivo de los protocolos de privación selectiva de sueño, es la perturbación específica de uno de los estados del sueño. En los presentes experimentos, la vigilia acumulada durante los protocolos de privación selectiva de sueño MOR (3RH06 y 3RH18), resultó ser más alta que la línea de base respectiva, particularmente en la fase de oscuridad. Este aumento se debió a que en la privación selectiva de sueño MOR resultó imposible aminorar la respuesta de alerta de los degus en cada intervención, lo que podría explicarse por la naturaleza salvaje de los individuos estudiados. El aumento en la vigilia ocurrió a expensas

de sueño MOR, y también de sueño NMOR, por lo tanto, las privaciones selectivas no resultaron ser suficientemente específicas. Este hecho podría explicar el que, el sueño NMOR post-privación selectiva, tiende a ser mayor que la línea de base en las horas post-privación. En consecuencia, la respuesta homeostática del sueño MOR post-privación en ambos protocolos, podría estar interferida por un sueño NMOR de ondas Delta.

Dos estrategias complementarias permitirían dilucidar estas interrogantes: 1) analizar el espectro de poder del EEG del sueño NMOR del *O. degus* en las horas post-privación, y compararla con la línea de base y con las horas post-privación selectiva de sueño MOR; y 2) analizar un segmento más largo de horas post-privación, en busca de una respuesta más tardía del sueño MOR. Ambas tareas están actualmente en desarrollo en el laboratorio.

En suma, según los resultados recién comentados, así como la correlación existente entre el sueño MOR post-privación y el sueño NMOR durante la privación, se dispone de evidencias que sugieren que la homeostasis del sueño MOR se asocia a la expresión del sueño NMOR en el *O. degus*.

## CONCLUSIONES

1. El CSV del *O. degus*, es muy fragmentado, presentando diferencias en la distribución temporal y proporción de los estados: 58% de vigilia, 2,59% de sueño MOR y 39,42% de sueño NMOR.
2. El *O. degus* presenta un patrón de vigilia bimodal crepuscular, de carácter endógeno.
3. El *O. degus* presenta distintos cronotipos: Nocturno, Intermedio y Diurno. Cada uno de estos, presenta distintos perfiles de distribución temporal para los estados del CSV.
4. Existe una modulación circadiana sobre los mecanismos homeostáticos del sueño MOR, la cual determinaría un perfil unimodal del sueño MOR en el *O. degus*, con una máxima centrada en la fase de oscuridad.
5. En el *O. degus*, la presión homeostática al sueño MOR podría ser generada en el curso de los episodios de sueño NMOR.

## REFERENCIAS

- **BENINGTON, J.H.; WOUDEBERG, M.C.; HELLER, H.C.** 1994. REM-sleep propensity accumulates during two-hour REM-sleep deprivation in the rest period in rats. *Neuroscience Letters* 180: 76-80.
- **BENINGTON, J.H.; HELLER, H.C.** 1994. Does the function of REM sleep concern non-REM sleep or waking?. *Progress in Neurobiology* 44: 433-449.
- **CHAVEZ, A.E.; BOZINOVIC, F.; PEICHL, L.; PALACIOS, A.G.** 2003. Retinal spectral sensitivity, fur coloration, and urine reflectance in the genus *Octodon* (Rodentia): Implications for visual ecology. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 44: 2290-2296.
- **CONDUIT, R.; BRUCK, D.; COLEMAN, G.** 1997. Induction of visual imagery during NREM sleep. *Sleep* 20: 948-956.
- **DIJK, D.J.; CZEISLER, C.** 1995. Contribution of the circadian pacemaker and the sleep homeostat to sleep propensity, sleep structure, electroencephalographic slow waves, and sleep spindle activity in human. *Journal of Neuroscience* 15: 3526-3538.
- **EBENSPERGER, L.A.** 1998. Sociality in rodents: The New World fossorial hystricognaths as study models. *Revista Chilena de Historia Natural* 71: 65-77.
- **EBENSPERGER, L.A.; CAIOZZI A.** 2002. Male degus, *Octodon degus*, modify their dustbathing behavior in response to social familiarity of previous dustbathing marks. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 157-163.

- **ENDO, T.; SCHWIERIN, B.; BORBELY, A.A.; TOBLER, I.** 1997. Selective and total sleep deprivation: Effect on the sleep EEG in the rat. *Psychiatry Research* 66: 97-110.
  
- **ENDO, T.; ROTH, C.; LANDOLT, H.P.; WERTH, E.; AESCHBACH, D.; ACHERMANN, P.; BORBELY, A.A.** 1998. Selective REM sleep deprivation in humans: Effects on sleep and sleep EEG. *American Journal of Physiology* 274: 1186-1194.
  
- **FRANKEN, P.** 2002. Long-term processes regulating REM sleep. *Journal of Sleep Research* 11: 17-28.
  
- **GALLY, J.A.; EDELMAN, G.M.** 2004. Neural reapportionment: An hypothesis to account for the function of sleep. *Comptes Rendus Biology* 327: 721-727.
  
- **GARCIA-ALLEGUE, R.; LAX, P.; MADARIAGA, A.M.; MADRID, J.A.** 1999. Locomotor and feeding activity rhythms in a light-entrained diurnal rodent, *Octodon degus*. *American Journal of Physiology* 277: 523–531.
  
- **HASTINGS, M.H.; REDDY, A.B.; MAYWOOD, E.S.** 2003. A clockwork web: Circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nature Reviews* 4: 649-661.
  
- **HOBSON, J.A.; PACE-SCHOTT, E.F.** 2002. The cognitive neuroscience of sleep: Neuronal systems, consciousness and learning. *Nature Reviews* 3: 679-693.
  
- **HORNE, J.A.; OSTBERG, O.** 1976. Self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology* 4: 97-110.

- **KAS, M.J.H.; EDGAR, D.M.** 1998. Crepuscular rhythms of EEG sleep-wake in a hystricomorph rodent, *Octodon degus*. *Journal of Biological Rhythms* 13: 9-17.
  
- **KAS, M.J.H.; EDGAR, D.M.** 1999a. A nonphotic stimulus inverts the diurnal-nocturnal phase preference in *Octodon degus*. *Journal of Neuroscience* 19: 328-333.
  
- **KAS, M.J.H.; EDGAR, D.M.** 1999b. Circadian timed wakefulness at dawn opposes compensatory sleep responses after sleep deprivation in *Octodon degus*. *Sleep* 22: 1045-1053.
  
- **KENAGY, G.J.; NESPOLO, R.F.; VASQUEZ, R.A.; BOZINOVIC, F.** 2002. Daily and seasonal limits of time and temperature to activity of degus. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 567-581.
  
- **LABYAK, S.E.; LEE, T.M.; GOEL, N.** 1997. Rhythm chronotypes in a diurnal rodent, *Octodon degus*. *American Journal of Physiology* 273: 1058-1066.
  
- **MANN, G.** 1978. Orden Roedores. **In:** Los pequeños mamíferos de Chile: Marsupiales, quirópteros, edentados y roedores. Editorial Gayana. Concepción, Chile. pp. 269-275.
  
- **MUÑOZ-PEDREROS, A.** 2000. Orden Rodentia. **In:** Muñoz-Pedreros, A.; Yáñez J. (Eds.). Mamíferos de Chile. CEA ediciones. Valdivia, Chile. pp. 108-110.
  
- **NICOLAU, M.C.; AKAÂRIR, M.; GAMUNDI, A.; GONZALEZ, J.; RIAL, R.V.** 2000. Why we sleep: The evolutionary pathway to the mammalian sleep. *Progress in Neurobiology* 62: 379-406.

- **OCAMPO, A.; WYNEKEN, U.; VIVALDI, E.A.** 1990. Active sleep and homeostatic regulation of sleep-wake cycle. (Abstract). *Archivos de Biología y Medicina Experimentales* 23: 218.
  
- **OCAMPO-GARCES, A.; LLANOS, C.; MOLINA, E.; RODRIGUEZ, A.; VIVALDI, E.** 1999. REM sleep homeostasis during an intermittent REM sleep deprivation protocol in the rat. (Abstract). *Sleep Research Online* 2: 546.
  
- **OCAMPO-GARCES, A.; MOLINA, E.; RODRIGUEZ, A.; VIVALDI, E.A.** 2000. Homeostasis of REM sleep after total and selective sleep deprivation in the rat. *Journal of Neurophysiology* 84: 2699-2702.
  
- **OCAMPO-GARCES, A.; VIVALDI, E.A.** 2002. Short-term homeostasis of REM sleep assessed in an intermittent REM sleep deprivation protocol in the rat. *Journal of Sleep Research* 11: 81-89.
  
- **PACE-SCHOTT, E.F.; HOBSON, J.A.** 2002. The neurobiology of sleep: Genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nature Reviews* 3: 591-605.
  
- **PARMEGGIANI, P.L.; MORRISON, A.R.** 1990. Alterations in autonomic functions during sleep. **In:** Loewy, A.D.; Spyer, K.M. (Eds.). *Central Regulation of Autonomic Functions*. Oxford University Press. New York, USA. pp. 367-386.
  
- **RALPH, M.R.; FOSTER, R.G.; DAVIS, F.C.; MENAKER, M.** 1990. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247: 975-978.
  
- **RECHTSCHAFFEN, A.; BERGMANN, B.M.; GILLILAND, M.A.; BAUER, K.A.** 1999. Effects of method, duration, and sleep stage on rebounds from sleep deprivation in the rat. *Sleep* 22: 11-31.

- **REFINETTI, R.** 1996. Rhythms of body temperature and temperature selection are out phase in a diurnal rodent, *Octodon degus*. *Physiology and Behavior* 60: 959-961.
  
- **REFINETTI, R.** 1999. Relationship between the daily rhythms of locomotor activity and body temperature in eight mammalian species. *American Journal of Physiology* 277: 1493-1500.
  
- **REPPERT, S.M.; WEAVER, D.R.** 2002. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 418: 935-941.
  
- **RONCAGLIOLO, M.; VIVALDI E.A.** 1991. Time course of rat sleep variables assessed by a microcomputer-generated data base. *Brain Research Bulletin* 27: 573-580.
  
- **SAPER, C.B.; CHOU, T.C.; SCAMMELL, T.E.** 2001. The sleep switch: Hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in Neurosciences* 24: 726-731.
  
- **SMALE, L.; LEE, T.; NUNEZ, A.A.** 2003. Mammalian diurnality: Some facts and gaps. *Journal of Biological Rhythms* 18: 356-366.
  
- **STEPHAN, F.K.; ZUCKER, I.** 1972. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *PNAS* 69: 1583-1586.
  
- **STERIADE, M.** 2001. Sleep. [en línea] **In:** Nature Encyclopedia of Life Sciences. <<http://80-www.els.net.ezproxy.library.tufts.edu>> [consulta: 05-12-2004].
  
- **TOBLER, I.; BORBELY, A.A.** 1986. Sleep EEG in the rat as a function of prior waking. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 64: 74-76.

- **VASQUEZ, R.A.** 1997. Vigilance and social foraging in *Octodon degus* (Rodentia: Octodontidae) in central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 557-563.
  
- **VASQUEZ, R.A.; EBENSPERGER, L.A.; BOZINOVIC, F.** 2002. The influence of habitat on travel speed, intermittent locomotion, and vigilance in a diurnal rodent. *Behavioral Ecology* 13: 182-187.
  
- **VAN ESSEVELDT, L.E.; LEHMAN, M.N.; BOER, G.J.** 2000. The suprachiasmatic nucleus and the circadian time-keeping system revisited. *Brain Research Review* 33: 34–77.
  
- **VIVALDI, E.A.; WYNEKEN, U.; RONCAGLIOLO, M.; OCAMPO, A.; ZAPATA, A.M.** 1994a. Measures of location and dispersion of sleep state distributions within the circular frame of a 12:12 light:dark schedule in the rat. *Sleep* 17: 208-219.
  
- **VIVALDI, E.A.; OCAMPO, A.; WYNEKEN, U.; RONCAGLIOLO, M.; ZAPATA, A.M.** 1994b. Short-term homeostasis of active sleep and the architecture of sleep in the rat. *Journal of Neurophysiology* 72: 1745-1755.
  
- **VIVALDI, E.A.** 2002. El ciclo sueño-vigilia. **In:** Golombek, D.A. (Eds.). *Cronobiología Humana*. Universidad Nacional de Quilmes Ediciones. Buenos Aires, Argentina. pp. 207-219.
  
- **WERTH, E.; COTE, K.A.; GALLMANN, E.; BORBELY, A.A.; ACHERMANN, P.** 2002. Selective REM sleep deprivation during daytime: I. Time course of interventions and recovery sleep. *American Journal of Physiology* 283: 521-526.

- **WOODS, CH.A.; BORAKER, D.K.** 1975. *Octodon degus*. Mammalian Species 67: 1-5.
  
- **WURST, S.W.; EDGAR, D.M.** 2000. Circadian and homeostatic control of rapid eye movement (REM) sleep: Promotion of REM tendency by the suprachiasmatic nucleus. Journal of Neuroscience 20: 4300-4310.
  
- **ZEPELIN, H.** 1994. Mammalian sleep. **In:** M. Kryger, T. Roth y W. C. Dement (Eds.). Principles and Practice of Sleep Medicine. W. B. Saunders Company. Philadelphia, USA. pp. 69-80.