



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



**PRIVACIÓN DE CORTA DURACIÓN DEL SUEÑO REM  
EN RATAS**

**JORGE GABRIEL ESTRADA ZÚÑIGA**

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

**PROFESOR GUIA: DR. ENNIO VIVALDI, MD**

SANTIAGO, CHILE  
2007

## RESUMEN

Los estudios de privación de REM típicamente apuntan a la homeostasis de largo plazo, por lo cual se han llevado a cabo privaciones de larga duración de REM, las cuales tenían una prolongación en el tiempo de algunas horas hasta incluso días. No obstante existe también la homeostasis de corto plazo para la cual no se han hecho estudios de privación. Es por esto que se utilizaron 12 ratas Sprague Dawley machos, las cuales fueron estudiadas polisomnográficamente, luego de una habituación a condiciones de laboratorio. Fueron mantenidas bajo condiciones de luz: oscuridad constante 12:12, con agua y alimentación *Ad-libitum*. La luz se encendió a las 8:00 hrs. Y se apagó a las 20:00 hrs. Luego de una implantación crónica de electrodos para estudios electroencefalográficos (EEG) y electromiográficos (EMG), los registros fueron obtenidos mediante un sistema automatizado. Se consideraron 5 días de registro. El protocolo experimental consistió en dos días basales; el día previo al comienzo de los paradigmas y el día posterior a estos. Los tres restantes consistieron en privaciones de 20, 40 y 60 minutos, las cuales fueron alternadas en su orden por rata. Los experimentos demostraron un mayor número de intentos por entrar a REM durante el periodo de cada paradigma experimental. Por otro lado también se encontró un aumento en el tiempo en la cantidad de REM durante el periodo de recuperación de cada rata (rebote compensatorio) y este efecto fue mucho más marcado en el paradigma de 60 minutos, sobre todo al pasar aproximadamente una hora desde el inicio de la recuperación. Además de esto, los episodios de NREM durante el periodo de recuperación fueron mucho más propensos a pasar a REM que a Vigilia.

En síntesis los efectos que causa una privación de mucho menor duración en relación a las privaciones de largo plazo, son muy similares entre sí, y además se manifiesta la homeostasis de corto plazo del sueño REM a este nivel de privación.

## **ABSTRACT**

The studies of REM deprivation typically aim at the long-term homeostasis, for which long-playing REM deprivations have taken effect, they had a prolongation in the time of some hours or days. Nevertheless also exists the short-term homeostasis for which studies of privation have not been done. Is for this reason that they utilized 12 Sprague Dawley male rats, which were polysomnographically studied, after habituation to laboratory conditions. They were kept under a 12:12 light:darkness cycle, with water and food Ad Libitum. The light switch on at the 8:00 hrs. and the light switch off at the 20:00. After chronic electrode implantation, EEG and EMG recording were obtained by a computer-based automated system. Five days of record are considered. The experimental protocol consisted in two baseline days; the previously day at the beginning of deprivations, and the posterior day at this. The three remainders days consist in deprivations of 20, 40 and 60 minutes of duration. The experiments demonstrated a bigger number of attempts to enter REM during the period of every experimental paradigm. In addition also found an increase in the time in the quantity of REM during the recovery period (compensatory rebound) and this effect was much more notorious in the paradigm of 60 minutes, most of all when passing approximately one hour from the beginning of recuperation. Besides this, NREM's episodes during the recovery period were much more prone to pass on to REM than to Weakness.

In synthesis the effects that causes a privation of a minor duration in relation to the long-term privations, are very similar among themselves, and in addition it demonstrates the short-term homeostasis of REM sleep to this level.

## INTRODUCCIÓN

El ciclo sueño vigilia consta de tres estados conductuales, el primero es el de vigilia y los siguientes los que corresponden a la etapa del dormir que son el NREM y el REM. Es la gran actividad ocular que se produce durante el REM (Rapid Eyes Movement, o MOR, movimiento oculars rápidos) la que le da el nombre a este estado del dormir, por el contrario el NREM se caracteriza porque no existe actividad ocular similar a la de REM.

La presencia de mecanismos que regulan el ciclo sueño vigilia se evidencia, en primer lugar, por los característicos cambios que ocurren durante y después de la privación de sueño, ya sea esta total (es decir no se le permite dormir a la rata) o selectiva (se le permite dormir, es decir entrar a NREM, pero no entrar a REM, que es el caso de la presente memoria). Durante la privación se evidencian por una parte, diversos déficits por la falta de sueño, y, por otra, una exacerbación de la expresión conductual de la motivación por dormir, es decir, el animal manifestará una mayor propensión por entrar a REM. Después de la privación, la homeostasis del sueño se expresa por el rebote compensatorio (hay más REM y con mayor densidad de elementos fásicos luego de la privación). Estos dos aspectos son igualmente válidos en la privación selectiva de sueño REM. En este caso se permite que el animal duerma pero se le despierta cada vez que trata de pasar del sueño NREM al REM. En esta situación, durante la privación se observa que el animal intenta cada vez con una menor latencia pasar al REM, al punto que al cabo de unas horas, ya la privación pasa a ser total pues apenas el animal vuelve a dormir pasa a REM. Después de terminado el período de privación se evidencia un rebote específico de REM.

Los estudios de privación de REM típicamente comprenden días o a lo menos horas, los que apuntaban hacia una homeostasis de largo plazo. Sin embargo, también existe una homeostasis de corto plazo del sueño REM (Vivaldi *et al.* 1994b), lo que ha motivado el objetivo de este estudio, cual es, analizar la privación de REM en escalas de tiempo menor a los estudios convencionales: 20, 40 y 60 minutos. El objetivo de estas privaciones es identificar si se observan efectos durante y después de privaciones de esta magnitud similares a los evidenciados en privaciones de mayor duración.

Al evaluar los efectos de privaciones en escala temporal menor se puede llegar a una aproximación a los mecanismos que subyacen la regulación del sueño REM a una escala distinta a la circadiana. Una de las implicancias de estos mecanismos es el creciente interés por los paradigmas de privación de sueño de pequeña cuantía, por ejemplo, el efecto de privación crónica de sólo un 10% de la cantidad de sueño habitual en el humano.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La pregunta por qué dormimos puede ser concebida de formas diferentes. Por una parte, es factible enfrentar la pregunta intentando dilucidar cuáles son los mecanismos que desencadenan y orquestan los estados conductuales, y que permiten (con transiciones sorprendentemente cortas) que el conjunto de nuestro encéfalo pase de un estado a otro. Este enfoque neurofisiológico, orientado a determinar áreas anatómicas, circuitos neuroquímicos y mecanismos neurales, ha resultado heurísticamente muy exitoso. Por otra parte, la pregunta por qué dormimos puede abordarse poniendo el énfasis en la especificidad de las funciones de cada uno de los estados del dormir, evidenciada en el hecho de que tenemos una necesidad absoluta de ambos estados. Este enfoque ha sido relativamente menos exitoso. Qué es aquello que, al menos en cantidades suficientes, sólo puede ocurrir cuando estamos en REM y aquello otro que sólo puede ocurrir cuando estamos en las etapas profundas del NREM, sigue siendo una pregunta con respuestas insatisfactorias. Sin embargo, hay una tercera forma de encarar la pregunta, y es la que nos refiere las razones por las cuáles estados que aparentemente nos dejan desconectados del entorno e indefensos, hayan aparecido y exitosamente perdurado en la evolución. Desde esa perspectiva evolutiva, la razón "última" por la cual dormimos está probablemente ligada a su carácter adaptativo en cuanto ritmo circadiano. Efectivamente, 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: el día en un primate visual o la noche en un roedor nocturno. El sueño contribuye así de modo decisivo a un "orden temporal interno" (Vivaldi, 2002).

En la rata ocurren notables semejanzas con el dormir humano: el sueño se concentra en una de las fases del ciclo luz-oscuridad, el NREM rico en ondas lentas se concentra en la primera mitad del período de sueño y el REM en la segunda mitad. Al observar su distribución dentro de las 24 horas (Vivaldi et al. 1994b), el NREM con alta densidad de ondas delta alcanza su máximo al comienzo del período de sueño y luego decae exponencialmente. La distribución del REM por su parte tiene una distribución marcadamente sinusoidal alcanzando un máximo en la segunda mitad del período de sueño (Vivaldi, 2002).

El ciclo sueño-vigilia representa una sucesión ordenada de estados conductuales. El concepto de estado conductual subraya que el conjunto de la fisiología, y particularmente del funcionamiento del sistema nervioso central, si se observa desde la perspectiva de múltiples variables, tiende a permanecer en un número discreto de configuraciones posibles. Estas configuraciones o estados conductuales no son dos, sueño y vigilia, sino más bien tres, pues al interior del dormir alternan dos estados, el sueño NREM y el sueño REM, tan diferentes entre sí como lo es cualquiera de ellos con el estado de vigilia.

Las principales variables que caracterizan los estados conductuales son la modalidad de conciencia o actividad mental (incluyendo la capacidad de interacción con el entorno), la actividad eléctrica observada en diversas áreas del encéfalo, el tono muscular, la regulación neurovegetativa y la motilidad ocular. Esta última es la que determina el nombre con que se denomina a los estados del dormir, pues la sigla REM de la literatura anglosajona se refiere a la presencia de movimientos oculares rápidos. Al sueño REM también se le conoce con los nombres de "desincronizado", "activo" y "paradojal" y al NREM con los de "sincronizado" y "quieto"; además en la literatura en castellano se pueden utilizar las siglas MOR y NMOR.

En el NREM hay dos tipos de actividades electroencefalográficas principales: los "husos de sueño" así llamados por constituir trenes de ondas de 12-14 Hz. (banda sigma) y las ondas delta que son ondas de gran amplitud y frecuencia inferior a 4 Hz. El electroencefalograma en el REM es de baja amplitud y alta frecuencia (ondas theta), muy semejante al que está presente en la vigilia alerta (Vivaldi, 2002). En el estado de vigilia movimientos oculares ocasionales pueden estar presentes y el electromiograma cervical siempre muestra tono postural (Timo-iaria *et al.*, 1970).

Los ciclos no progresan directamente desde vigilia a fase paradójica (REM). La fase paradójica puede ser seguida ya se a por husos de sueño, husos de sueño y ondas lentas, u ondas lentas solas (Timo-iaria *et al.*, 1970).

El sueño puede ser apreciado como un proceso homeostático. El aspecto homeostático de la regulación de sueño es evidente durante los experimentos de privación de sueño donde el sueño perdido induce un incremento compensatorio de sueño. Existen pruebas de que un déficit de sueño es compensado, no sólo por una duración de sueño más larga, si no también por una mayor intensidad de sueño. La noción de intensidad de sueño está basada en la actividad electroencefalográfica de ondas lentas, la cual predomina en la fracción de sueño profundo de ondas lentas del NREM y es particularmente realzado por vigilia extendida (Trachsel *et al.*, 1986).



Casi todos los animales endotermos (aves y mamíferos) tienen dos fases de sueño: sueño con movimientos oculares rápidos (sueño REM) y sueño sin movimientos oculares rápidos (sueño NREM). El sueño REM también se conoce como sueño D o desincronizado, el cual está vinculado con las ensoñaciones o sueño paradójico, debido a que el cerebro está muy activo durante esta fase, a pesar de que nos encontramos dormidos. Durante el sueño REM y la vigilia, por ejemplo, hay similitud de los patrones electroencefalográficos (EEG), los cuales se hallan activos; lo mismo ocurre con el consumo de oxígeno y flujo sanguíneo regional. Por otro lado, en el sueño NREM, se observa una disminución de la activación EEG (ondas delta de 0.5 a 2 Hz.), así como una baja de la actividad del organismo en general; a esta fase también se le conoce como sueño sincronizado o sueño S (Valencia, 2000).

La alternancia de estados conductuales representa un gran sistema ordenador del conjunto del funcionamiento de nuestro cerebro y del conjunto del organismo, y contribuye marcadamente a la estructuración de un orden temporal interno, un concepto central para la fisiología. Este orden temporal interno surge como consecuencia de que prácticamente cualquier variable que se monitoree, va a presentar un curso temporal y una fase que son fijas para ella y probablemente distintas para otras variables; y como todas siguen un período de 24 horas, existe una relación o diferencia de fase fija entre dos variables cualquiera. Por ejemplo, la hormona de crecimiento tiene un alza más bien de corta duración que coincide con las primeras horas del dormir, mientras el cortisol presenta un ascenso más lento desde antes del despertar. Por lo tanto, parte de nuestra "normalidad" es que secretamos hormona de crecimiento cuando estamos durmiendo, y parte de nuestra "normalidad" es que despertamos con los niveles de cortisol en alza. Las variables presentan una ritmicidad porque directa o indirectamente están vinculadas a un oscilador circadiano. Ese vínculo bien

puede, para algunas de ellas, constituirlo en mayor o menor medida el propio ciclo sueño-vigilia. De los dos ejemplos recién mencionados, el ritmo de hormona de crecimiento está muy importantemente determinado por la presencia del sueño NREM de ondas lentas que ocurre al comienzo del dormir, al contrario de lo que sucede con el de cortisol, cuyo vínculo con el reloj es más bien independiente del sueño (Vivaldi, 2002).

Los estados conductuales cumplen funciones específicas, demostrables por los efectos de su privación. Existe una necesidad de ambos tipos de sueño, y las privaciones selectivas provocan recuperaciones selectivas (Rechtschaffen *et al.*, 1999). En cualquier caso, la función restauradora que la intuición atribuye al sueño parece cumplirse en relación a las etapas del NREM ricas en ondas delta (Vivaldi, 2002).

El tono muscular en el NREM está disminuido respecto a la vigilia, pero esa situación resulta mucho más marcada en el REM, cuando hay una atonía muscular activa y centralmente inducida, a diferencia de la simple relajación muscular del sueño NREM. La atonía impide que actuemos nuestros sueños y no es infrecuente que ocurran las denominadas "parálisis del despertar" en las que se recupera parcialmente un grado de lucidez que permite percatarse, literalmente en carne propia, de la atonía muscular (Morrison y Pompeiano 1965, Morales *et al.*, 1987).

La arquitectura del ciclo sueño-vigilia es el resultado de diversas influencias, entre las que destacan factores homeostáticos y circadianos. Los factores homeostáticos explican que, en ausencia de un estado, se acumule una "presión" para ese estado. La gran cantidad de sueño de ondas delta al comienzo de la noche representaría el

cumplimiento de una homeostasis relacionada con la función restauradora del dormir. Análogamente, un sujeto privado selectivamente de REM, apenas se le permite dormir, pasa inmediatamente a un período prolongado de ese estado. La modulación circadiana del dormir es ejercida por uno o más sistemas de osciladores, probablemente de modo diferencial sobre sus estados. Notablemente, la incidencia de sueño REM al final de la noche coincide con el alza de temperatura corporal y está fuertemente determinada por el oscilador circadiano (Vivaldi, 2002).

La regulación del ciclo sueño-vigilia es el resultado de la interacción de dos factores principales: el homeostático y el circadiano (Borbely 1982, Daan *et al.*, 1984).

El mecanismo homeostático se refiere primariamente a algún proceso para el cual existe un valor de referencia con el cual puede ser comparado, proceso que va en aumento durante la vigilia y en disminución durante el sueño. Como consecuencia, mientras más tiempo en vigilia, mayor propensión a dormir, mientras más tiempo en sueño, menor propensión a dormir. Se acepta que el indicador fisiológico de la homeostasis del sueño (más precisamente, de la homeostasis del sueño NREM) es la actividad de ondas lentas en el EEG, la que disminuye exponencialmente a lo largo de la noche (Dijk *et al.*, 1990).

Está bien establecido que una presión a NREM (también referido como propensión a NREM o necesidad y proceso S) incrementa en la ausencia de NREM y decrece en su presencia y que esta presión se refleja en la fuerza de la onda delta en el electroencefalograma de NREM (Borbely 1982, Daan *et al.*, 1984).

También, el REM es homeostáticamente regulado. Aunque las medidas electroencefalográficas de intensidad de REM han sido propuestas, las pérdidas de REM parecen ser primordialmente compensadas por incrementos en la duración de REM como ha sido observado luego de privaciones selectivas de REM o de privaciones totales de sueño en una variedad de especies mamíferas. En particular, varios estudios en ratas, gatos y ratones indican que el incremento de REM durante la recuperación de privaciones de REM, variando en duración desde 1 a 24 horas, es proporcional a la pérdida incurrida por la privación, lo cual sugiere que la cantidad diaria de REM está exactamente regulada. Al juzgar el tiempo del rebote de REM luego de una privación total de sueño o privación selectiva de REM, también la regulación homeostática de REM parece ser independiente de la modulación circadiana (Franken, 2002).

Desde la perspectiva de Benington *et al* (1994), la presión a REM aumenta exclusivamente durante el NREM y el REM favorece la función del NREM. Por consiguiente, el acumulo diario de REM sólo estaría regulado a través del NREM, lo cual estaría en desacuerdo con los estudios de privación anteriormente señalados en los cuales se ve que el acumulo de REM per se está homeostáticamente regulado, independientemente del NREM. Esta hipótesis está basada principalmente en el análisis de discretos eventos electroencefalográficos en NREM precediendo la transición a REM. Estos Pre-REM (referidos como transiciones de NREM a REM) incrementan en número según progresa el NREM y pueden ser interpretados como representación de medida de presión a REM. En adición, algunos autores encuentran que la duración de los episodios de REM pueden predecir el siguiente episodio de NREM (Franken, 2002)

La interacción entre el control homeostático y circadiano del sueño REM fue estudiada en ratas con ablación del núcleo supraquiasmático y en oscuridad constante, observándose la respuesta compensatoria a la privación selectiva de REM de 24 horas a diferentes fases circadianas. El objetivo era distinguir si el rol del supraquiasmático consiste en inducir el REM en determinadas fases, en inhibirlo, o en afectarlo indirectamente mediante un desplazamiento temporal por parte de otros estados conductuales. El estudio concluyó que, durante la privación, el supraquiasmático promueve la propensión al REM en la fase de reposo y no la inhibe en la fase de actividad, y que, posteriormente, el factor circadiano no interactúa con los mecanismos homeostáticos responsables del rebote del REM que sigue a la privación (Wurts & Edgar 2000).

La fuerza de la onda Delta en el NREM típicamente declina durante el curso de periodo de sueño diario, incrementa durante la vigilia, y se reduce luego de un exceso de sueño. Estos cambios en la fuerza de delta son el reflejo de un proceso homeostático, el cual en interacción con el proceso circadiano regulan el tiempo e intensidad del NREM (Franken, 2002).

Durante un episodio de sueño ambos, NREM y REM, necesitan ser satisfechos. Ambos comportamientos parecen competir por expresarse y una alta presión selectiva para un estado de sueño causa repercusión para la expresión del otro. Privaciones selectivas de REM o estudios de privación de sueño parcial han demostrado que el electroencefalograma del NREM puede ser afectado por el incremento en la presión de

REM. Inversamente, una alta presión a NREM en ratas con el SNC lesionado luego de 6 horas de privación de sueño inicialmente suprimen el REM durante la recuperación de sueño (Franken, 2002).

La importancia del rol de los factores circadianos para la regulación de sueño en la rata es evidente en un experimento conflictivo, en el cual fue llevada a cabo una privación de sueño de 24 horas desde el fin al comienzo de la fase de oscuridad, periodo de actividad circadiana del animal. La privación de sueño dio paso a un inmediato rebote de sueño que fue seguido por un periodo de vigilia y por un segundo rebote de sueño luego del encendido de la luz, 12 horas después de la privación de sueño. Sin embargo, no quedó muy claro si la causa de la magnitud del retardo de rebote de sueño fue debido a: 1) el largo episodio de vigilia durante el periodo de recuperación, 2) el sueño influenciado por la luz, 3) factores circadianos, y 4) privación de sueño (Trachsel *et al.*, 1986).

La luz parece reducir la amplitud del electroencefalograma de sueño de ondas lentas, debido a que uno de los cambios mejor definidos durante oscuridad continua es el incremento de este parámetro. Bajo condiciones de Luz – Oscuridad el progresivo aumento de la amplitud del electroencefalograma en las etapas tempranas del periodo de oscuridad, puede reflejar una recuperación gradual del efecto supresivo de la luz (Trachsel *et al.*, 1986).

La privación de sueño REM da lugar a un rebote modesto, pero significativo de sueño REM (Werth *et al.*, 2002).

La regulación del REM conlleva un mecanismo homeostático lo suficientemente refinado como para que se exprese al interior del ciclo sueño-vigilia, donde el intervalo hasta el próximo episodio de REM se relaciona con la duración del episodio anterior (Vivaldi et al. 1994a, Barbato y Wehr 1998, Ocampo-Garcés *et al.*, 2000).

En lo medular de la hipótesis de homeostasis de corto plazo de sueño REM está el concepto de que durante un episodio de REM la presión a REM es disipada según cuanto largo sea el episodio, el remanente de presión a REM es menor y el intervalo al próximo episodio de sueño REM es más largo (Ocampo *et al.*, 2001).

*Privación selectiva de REM:* La privación selectiva del sueño REM produce consistentemente dos efectos: un incremento en la frecuencia de intentos por entrar a sueño REM dentro del curso del periodo de privación y un aumento en la expresión del rebote (es decir, se incrementa la intensidad del REM siguiente al término de la privación) en sueño REM durante la recuperación del sueño. Estos hallazgos sugieren que existe una propensión a que el REM se acumule durante la privación y persiste hasta que puede ser descargado a través de la expresión de sueño REM (Benington *et al.*, 1994).

*Homeostasis de corto plazo:* En la alternancia espontánea entre episodios, la homeostasis de corto plazo relaciona la duración de un determinado episodio de sueño REM con la duración del intervalo siguiente (tiempo transcurrido hasta la nueva ocurrencia de REM). Mientras más largo un episodio, más tiempo podrá el animal abstenerse de entrar a un nuevo episodio (más tardío el momento en que un nuevo episodio se desencadena o permite).

Dos manifestaciones claves evidencian la homeostasis en la privación selectiva:

- Durante la privación aumenta la somnolencia y propensión por entrar a REM
- Después de la privación hay un rebote compensatorio

Suponemos entonces que la presión al sueño REM aumenta a lo largo de una ventana temporal de duración semejante al intervalo sin REM del ciclo espontáneo y que disminuye a lo largo de la ocurrencia de un episodio de REM.

La caída en la presión al sueño REM es proporcional a la cantidad de REM intercurrente (Vivaldi, 2002).

Puede añadirse que en humanos la fracción de sueño activo del ciclo SA/SQ (Sueño activo/Sueño quieto) se vuelve mayor en la segunda mitad de la noche, y en ratas eso es también un incremento en el tiempo transcurrido en este estado en la segunda mitad de su período diurno predominante de sueño (Maldonado y Vivaldi, 2001).

Cuando un sujeto humano o un animal experimental tienen acceso a dormir pero no a entrar al sueño activo, aumenta una presión que es manifestada por intentos para entrar en este estado con latencias progresivamente más cortas y por un rebote compensatorio posterior a que la privación de sueño activo se acaba (Maldonado y Vivaldi, 2001).

La mayoría de los experimentos son hechos en la tarde, dado que las ratas son usualmente menos activas durante esta parte del día, lo que aumenta la probabilidad de que duerman espontáneamente (Timoniar *et al*, 1970).



En cuanto a lo que se refiere al estudio de señales bioeléctricas podemos agregar:

Las señales biomédicas representan variables fisiológicamente relevantes de las que nos interesa su curso temporal. La variable puede ser un voltaje muy pequeño, como el electroencefalograma, o puede ser una variable que originalmente no es eléctrica, como la presión o la temperatura. En todos los casos, estas señales son tales porque van cambiando en el tiempo. Es natural entonces que tradicionalmente se registraran con instrumentos como los polígrafos, en los que un papel pasa a velocidad constante bajo una pluma conectada a un voltímetro, y que, con el advenimiento de computadores y monitores, estos se fueran reemplazando por el barrido de imágenes digitales (Maldonado y Vivaldi, 2001).

El conversor análogo digital es la interfaz que permite traducir un voltaje existente en el mundo real a un número que representará a ese voltaje dentro del computador. El computador ingresa las señales tomando muestras sucesivas de ellas, típicamente a una tasa fija que puede ser de cientos o miles de muestras por segundo. La secuencia de puntos del computador es por lo tanto la versión digital de las líneas del polígrafo. De hecho cuando la resolución de la pantalla permite una secuencia de puntos lo suficientemente densa, esta pasa a ser, para todos los efectos prácticos, una línea. Dos dimensiones que caracterizan este proceso de conversión análogo digital son la resolución temporal y la resolución de amplitud. La primera se refiere a la tasa de muestreo y se relaciona con el ancho de banda de la señal de interés. Por ejemplo, en el caso del electroencefalograma (EEG) interesa un rango de frecuencia o ancho de banda de 0.2 a 60 Hz, mientras que en el caso del electrocardiograma (ECG) el ancho de banda es mayor,

de 0.15 a por lo menos 150 (y preferiblemente más), pues debe resolverse nítidamente la forma del complejo QRS que tiene componentes muy rápidos. La resolución de amplitud se refiere a la capacidad del conversor de discriminar como distintos dos voltajes. En los sistemas de análisis de EEG se considera que una resolución de 8 bits (1/256 partes) es suficiente para cubrir el rango de amplitud de entrada que alcanza unos 600  $\mu\text{V}$ , en el caso del ECG, se suelen requerir conversores de 12 bits (1/4.096 partes) para cubrir un rango de unos 10 mV (Maldonado y Vivaldi, 2001).

Una vez leídas las señales, para el computador resulta trivial una serie de manipulaciones que el usuario agradece mucho pues facilitan la inspección de señales: amplificar o reducir la amplitud; expandir o contraer la base de tiempo para ver con más detalle una señal o para ver un segmento más prolongado en una sola pantalla; utilizar códigos de colores para señales de diversos orígenes; seleccionar cuales mostrar cuando hay múltiples canales o combinaciones (Maldonado y Vivaldi, 2001).

Un nivel mínimamente más sofisticado lo constituye el procesamiento de la señal equivalente al acondicionamiento típico del polígrafo analógico, y que permite introducir filtros para minimizar selectivamente cierto rango del espectro de frecuencias, sea inferior, medio o superior. El algoritmo puede ser tan simple como ir efectuando un promedio móvil de la señal con lo que se atenúan sus transientes (Maldonado y Vivaldi, 2001).

### **OBJETIVOS GENERALES**

1. Estudiar el efecto de una privación de sueño REM limitada a intervalos de tiempo entre 20 a 60 minutos (es decir, mucho menores de los que convencionalmente se utilizan para estudios de privación).
2. Contribuir así a una mejor comprensión de los mecanismos que subyacen a la homeostasis de corto plazo del sueño REM.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar el curso temporal de la incidencia de intentos de transición a REM durante privaciones de 20, 40 y 60 minutos, en particular, si van aumentando los intentos a lo largo de ésta.
2. Determinar el curso temporal del sueño después de finalizado los intervalos de privación, es decir, la incidencia de vigilia, REM y NREM, en particular si se puede determinar un aumento en la cantidad de REM o en la duración de los episodios que pueda interpretarse como una recuperación del REM privado.
3. Implementar un sistema automático de privación de sueño que incorpore los adelantos tecnológicos existentes actualmente en computación y robótica.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 ratas Sprague-Dawley\* machos entre 250 a 350 grs. de peso.

### Procedimiento anestésico:

Se utilizaron 20 mg. de ketamina (10%) + 2 mg. de xilacina (2%) como dosis total por individuo vía intraperitoneal. Una vez que la anestesia surtió efecto se llevó a cabo la preparación quirúrgica.

### Preparación quirúrgica:

Se procedió a depilar la zona del cráneo con una maquina de afeitar desechable, dejando así la zona superior del cráneo completamente despejada. Luego, cada individuo fue posicionado en un aparato estereotáxico (Fig. 1), lo que permitió su fijación durante la cirugía. Posteriormente se aplicó povidona yodada en toda la zona depilada



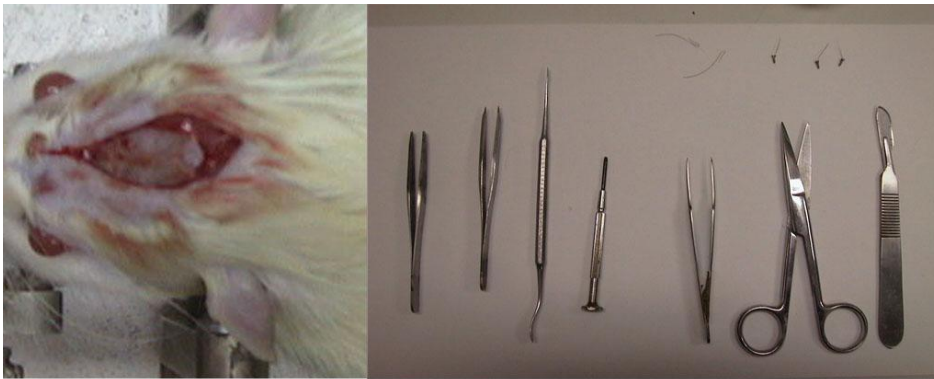
*Fig 1.*

---

\* Aprobado por Comité de Bioética: N° de protocolo 022 A

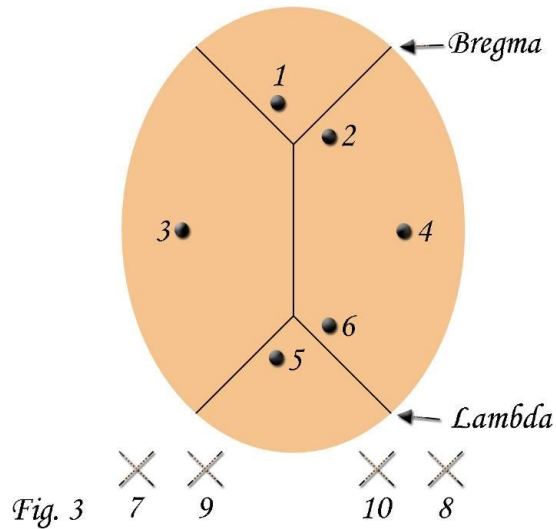
### Procedimiento quirúrgico:

- Se llevó a cabo una incisión en la línea media sobre la piel del cráneo. Se utilizó mango de bisturí Nº 3 con hoja desechable Nº 10. Posteriormente se procedió a ampliar la zona media con tijera Mayo y luego se limpió toda al área con agua oxigenada para tener una mejor visualización de bregma y lambda en la superficie del cráneo (bregma: cisura que divide hueso frontal de parietal; lambda: cisura que divide hueso parietal de occipital) (Fig. 2).



*Fig. 2*

- Una vez que la zona anteriormente señalada se encuentra completamente despejada, se procede a marcar los puntos donde se harán las perforaciones para la posterior implantación de electrodos epidurales (Fig. 3):
  - 1: +1 respecto a bregma y -2 respecto a la línea media
  - 2: -1 respecto a bregma y +2 respecto a la línea media
  - 3 y 4: - 5 respecto a bregma y +/- 3 respecto a la línea media
  - 5: -1 respecto a lambda y -2 respecto a la línea media
  - 6: +1 respecto a lambda y +2 respecto a la línea media



- Luego, se realiza la perforación de las zonas marcadas, mediante un taladro eléctrico con broca de 44 mm de largo, 2.3 mm de diámetro (cuerpo) y 0.9 mm de diámetro (cabeza). (Fig. 4)
- En seguida se procede a atornillar los 6 electrodos epidurales (tornillos de 4,7 mm de largo y 1,17 mm de diámetro, soldados a una porción de cable de acero inoxidable, aislado con teflón) en los orificios anteriormente realizados con un destornillador de paleta de 1,4 mm de diámetro (Fig. 4). También se procede a colocar 4 electrodos nucales, en forma bilateral a la línea media en pares, mediante una aguja de sutura (simple, curva y atraumática) con la cual se fijan los electrodos a través de los músculos de la nuca.



*Fig. 4*

- A continuación los 6 electrodos epidurales y los 4 nucales se sueldan a un conector hembra (Fig. 5) mediante soldadura y ácido ortofosfórico.
- Finalmente todo el implante es recubierto con acrílico dental lo que le brinda mayor protección (Fig. 5).



*Fig. 5*

**Periodo post-operatorio:**

- Como medida de profilaxis, se aplicó enrofloxacino 5% (10 mg/kg, SC). Posteriormente las ratas fueron confinadas en jaulas, durante 3 días, de 30x30x25 cm, ubicadas dentro de cámaras de aislamiento de 60x60x70, en las cuales la luz se encendía a las 8:00 y se apagaba a las 20:00 (ciclo luz-oscuridad 12:12), temperatura ambiente de 21-24°C, con agua y alimento *ad libitum*. (Fig. 6)



*Fig. 6*

#### **Registro y adquisición de datos:**

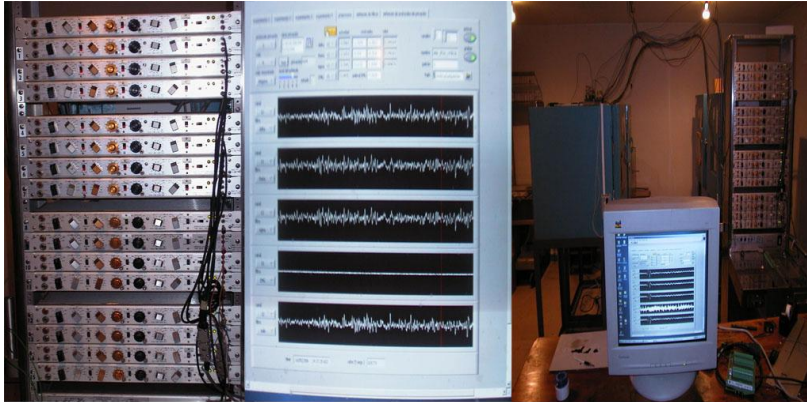
- Luego de transcurridos los 3 días de post-operatorio los animales fueron conectados mediante un cable de conexión constituido por dos conectores macho (uno en cada extremo), el cual se encontraba anclado a un conmutador con un sistema de contrabalanceo, que le permitieron el libre desplazamiento a cada animal en su jaula. (Fig. 7)



*Fig. 7*

- La señal fue amplificada y filtrada (1-30 Hz para la banda delta; 3-30 Hz para la banda theta; 10-30 Hz para la banda sigma y 30-90 Hz para EMG) mediante un preamplificador de polígrafo de Grass. Luego la señal fue desplegada en un monitor local y almacenada en archivos de 10 minutos en el disco duro y disponibles para su posterior monitoreo remoto en línea. (Fig. 8)





*Fig. 8*

- El diagnóstico de estado se realizó con una resolución temporal de 15 segundos mediante el programa LabWindows el cual en primer lugar detectó la actividad cortical de delta y sigma, el ritmo theta hipocampal y la actividad muscular. En segundo lugar, cuantificó la incidencia de dichos elementos en episodios de 15 segundos (época) y, en tercer lugar construyó y almacenó una tabla cuyas columnas contenían los cuatro elementos relevantes y cuyas filas contenían los lapsos de tiempo.

#### **Protocolo experimental:**

- Luego de los 3 días de adaptación los animales fueron sometidos al siguiente protocolo experimental:
  - Se tomaron 5 días de registro de los cuales el primer y ultimo día fueron tomados como línea de base (BI) y el segundo, tercer y cuarto día fueron sometidos a privaciones en diseño balanceado de 20 (P20), 40 (P40) y 60 (P60) minutos para controlar por secuencia como se aprecia en el siguiente diagrama (Tabla 1):

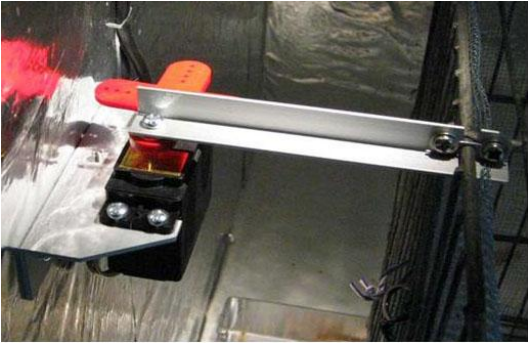
Tabla 1. Diseño balanceado para controlar por secuencia.

<b>Día 1</b>	<b>Día 2</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 4</b>	<b>Día 5</b>
BL	P20	P40	P60	BL
BL	P20	P60	P40	BL
BL	P40	P20	P60	BL
BL	P40	P60	P20	BL
BL	P60	P20	P40	BL
BL	P60	P40	P20	BL

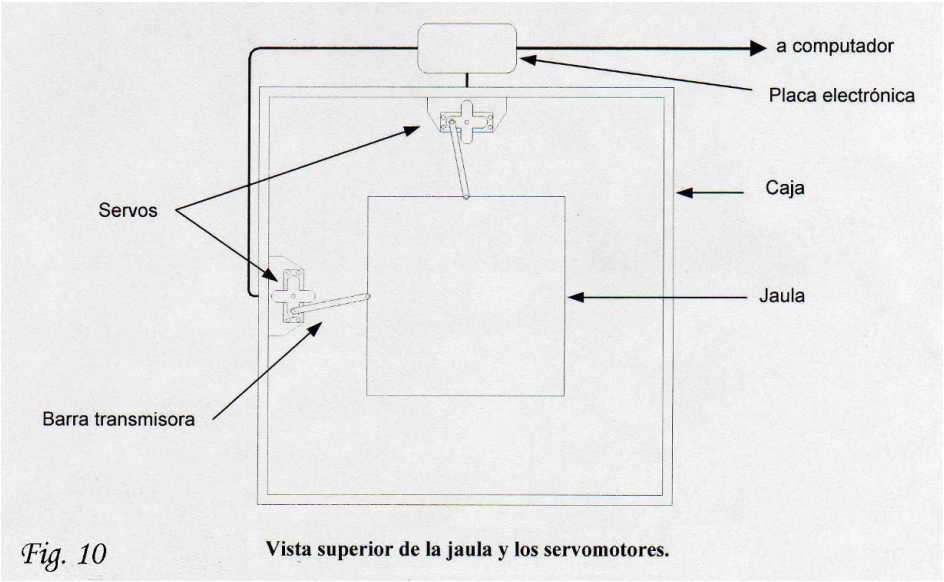
Cada día de privación comenzó a las 14:00 hrs. y terminó a las 14:20 para la privación de 20 minutos, a las 14:40 para la de 40 minutos y a las 15:00 para la de 60 minutos. Cada día basal comenzó a las 14:00 hrs. y finalizó a las 17:00 hrs.

Para llevar a cabo las privaciones se utilizó el sistema automatizado de privación de sueño, el cual consiste en dos servomotores (Fig. 9) que permiten mover la jaula (que se encuentra colgada en sus cuatro esquinas) en los ejes horizontales para generar sacudidas de diversa topología e intensidad. Estos servomotores son controlados por una placa electrónica que se conecta al computador a través de un enlace serial estándar. Cada servo en forma independiente, es capaz de generar movimiento teniendo en cuenta dos variables: amplitud de movimiento y retardo o tiempo entre movimientos individuales. Esto permite generar una amplia variedad de patrones de movimiento, desde vibraciones suaves y uniformes hasta sacudidas bruscas e irregulares. Al detectarse la transición a sueño REM se envía una señal desde el computador para que los servomotores se muevan generando el movimiento de la jaula lo que hace que la rata despierte (Fig. 10). Para el caso de nuestros experimentos se utilizó este sistema, pero con dos métodos distintos; el

primero para las 6 primeras ratas era controlado por el ser humano, es decir, el decidía en que momento intervenir; el segundo; utilizado en las siguientes 6 ratas consistía en que el computador decidía en que momento debía llevarse a cabo la intervención.



*Fig. 9*



*Fig. 10*

Vista superior de la jaula y los servomotores.

### **Análisis estadístico:**

Las principales variables independientes o factores fueron la duración de privación (20, 40 o 60 minutos) y el método de privación (manual o automático).

A continuación se esquematizan las principales variables dependientes o respuestas durante la privación y durante la recuperación. (Abreviaturas: W vigilia, N NREM, R REM, TR transición a REM)

#### 1. Durante la privación

1.1 Cantidad y curso temporal de intentos de TR (intervenciones) (total, por 20')

1.1.1 Comparar según método

1.2 Cantidad y curso temporal de W y N (total, por 20')

1.2.1 Comparar según método

1.3 (Cantidad de W y N total por la hora previa para todos los paradigmas)

#### 2. Durante la recuperación

2.1 Orientado a bloques temporales (20') y total

2.1.1 R por bloque

2.1.2 N por bloque

2.1.3 W por bloque

2.2 Orientado a episodios (tiempo ininterrumpido en que dura la presencia de un estado en particular)

- 2.2.1 Episodios de R número y distribución de frecuencia x duración
- 2.2.2 Episodios de N número y distribución de frecuencia x duración
- 2.2.3 Episodios de W número y distribución de frecuencia x duración

### 2.3 Orientado a transiciones a R

- 2.3.1 Episodios de N que no transitan a R
- 2.3.2 Episodios de N que transitan a R
- 2.3.3 Intervalos previos a transiciones a REM
- 2.3.4 Relación episodio R e intervalo anterior
- 2.3.5 Relación episodio R y N anterior

### 2.4 Homeostasis de corto plazo

- 2.4.1 Con NREM anterior y siguiente
- 2.4.2 Con intervalo anterior y siguiente

~~Las variables analizadas fueron:~~

~~Curso temporal de la ocurrencia de intentos de transición a REM durante la privación.~~

~~Curso temporal de la presencia de REM durante las 2 horas posteriores a la privación.~~

~~Duración de episodios e intervalos entre episodios de REM.~~

~~Se~~ e aplicaron diversos test según las variables y el tipo de comparación. Cuando las variables eran números indicando incidencias se aplicó habitualmente el test de de chi-cuadrado. Cuando eran variables continuas se aplicaron test paramétricos ~~un~~ (ejemplo, ~~ANDEVA~~-ANOVA) o no paramétricos (ejemplo, Kruskal-Wallis). Algunas comparaciones fueron entre ~~de medidas repetidas~~.

~~Se compararon~~ días basales ~~v/s~~ y días experimentales, otras entre distintos momentos de una secuencia. Cuando era factible se prefirieron ~~t~~test que consideraran que las medidas eran repetidas en el mismo sujeto, tal como el test de student pareado.

## RESULTADOS

### 1. Durante la privación:

#### 1.1. Intervenciones:

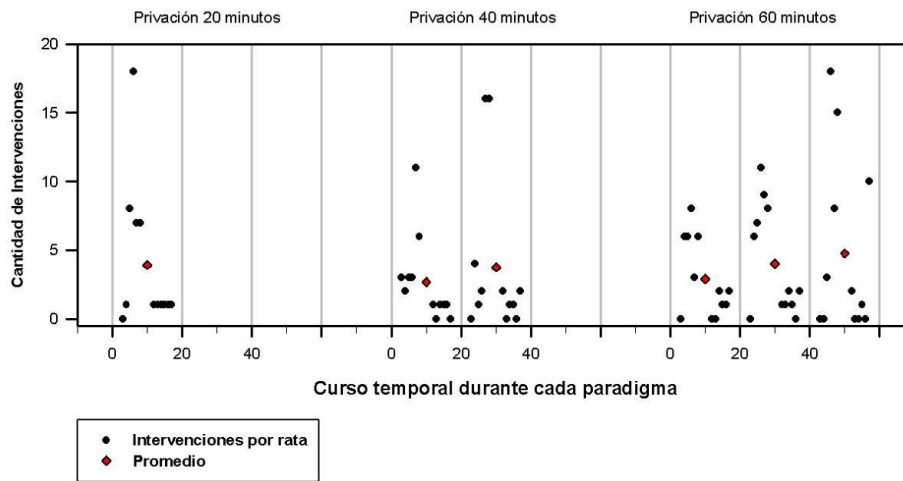


Gráfico 1.1 Distribución de las intervenciones por rata, durante cada paradigma de privación, en bloques de 20 minutos.

El Gráfico 1 muestra el número de intervenciones en cada intervalo de 20 minutos para los tres paradigmas. Se muestran los datos para cada rata (puntos negros) y los promedios (rombos rojos) para apreciar la variabilidad interindividual y la tendencia de los promedios. Como las intervenciones representan a su vez los intentos de transición a REM, el gráfico sugiere por lo tanto que los intentos por entrar a REM van aumentando a lo largo de una privación.

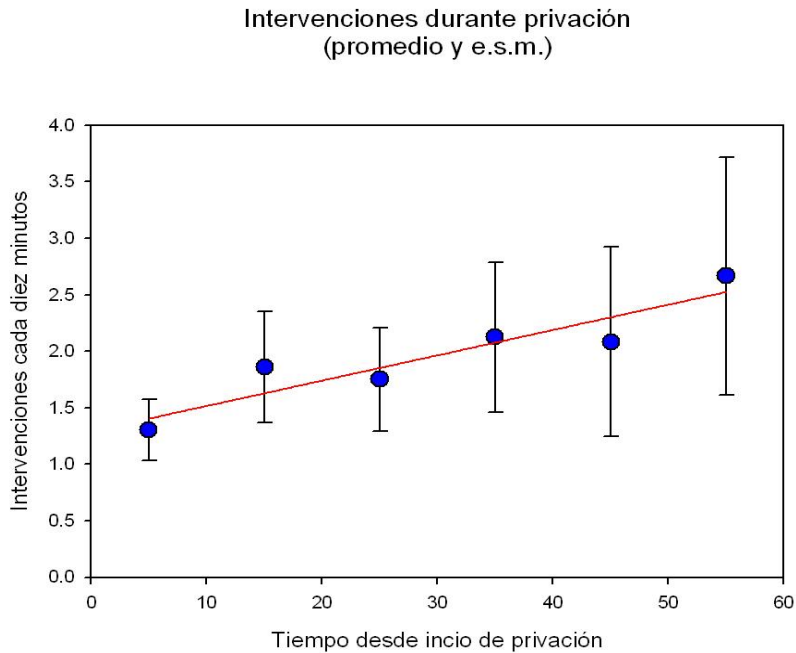


Gráfico 1.2 Promedios y errores estándares de la media de las intervenciones por rata, por bloques de 10 minutos. Se muestra además la línea de regresión.

Con el fin de evaluar esa tendencia se obtuvieron los promedios y errores estándares de la media para cada intervalo de diez minutos. El número de observaciones que contribuyen a cada punto es de 36, 24 o 12 según el número de paradigmas involucrados por rata sea tres (puntos correspondientes a 5 y 15 minutos) o dos (25 y 35 minutos) o uno (25 y 35 minutos). La regresión de estos 144 puntos se hizo absorbiendo la variable rata individual (12 categorías), es decir, incorpora el hecho de que son medidas repetidas en el tiempo. La regresión lineal de los puntos dio un coeficiente de 0.2247 y una constante de 1.4213 y resultó significativa con un  $F_{(1,131)}$  de 4.48 lo que dio un  $p=0.0363$ .



Si hacemos un Student's  $t$ -Test pareado fijándonos sólo en aquellos casos en que existen intervenciones en al menos dos de los tres bloques de 20 minutos, por rata (rc), de privación obtenemos los siguientes resultados:

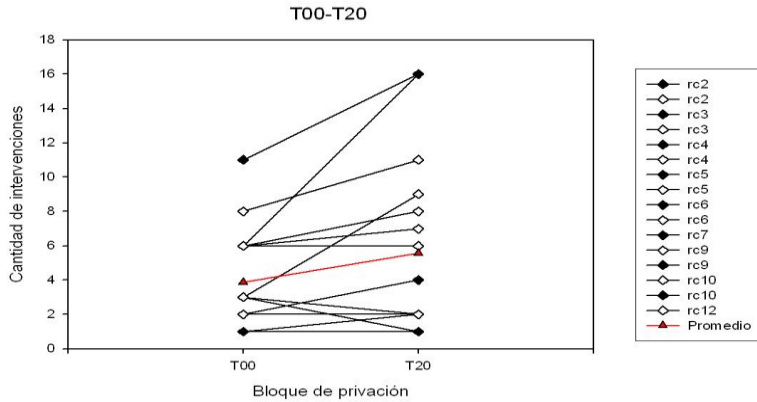


Gráfico 2.1. Cantidad de intervenciones por rata durante el primer y segundo bloque de 20 minutos de privación.

Al hacer el análisis estadístico para el primer y segundo bloque de 20 minutos (Gráfico 2.1) podemos apreciar que el aumento en las intervenciones de un bloque a otro **claramente** es significativo ( $p=0.0427$ ).

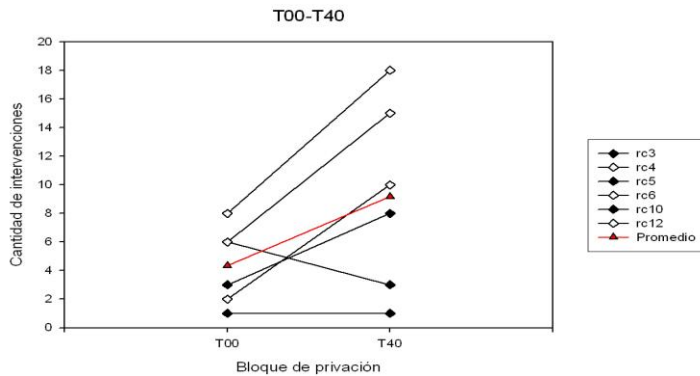


Gráfico 2.2. Cantidad de intervenciones por rata durante el primer y tercer bloque de 20 minutos de privación.

Ahora si analizamos el aumento entre el primer y tercer bloque de privación (Gráfico 2.2), si bien el alza en las intervenciones es bastante marcado, al realizar el análisis estadístico, se aprecia una clara tendencia si bien no alcanza la significancia ( $p=0.0746$ ). ~~al realizar el análisis estadístico, se aprecia un resultado muy cercano a la signi~~

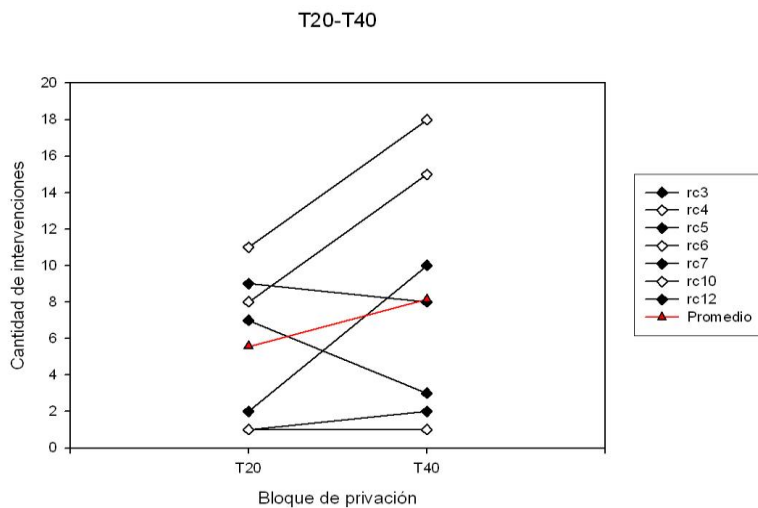


Gráfico 2.3. Cantidad de intervenciones por rata durante el segundo y tercer bloque de 20 minutos de privación.

Finalmente si observamos el segundo contra el tercer bloque de 20 minutos de privación (Gráfico 2.3), también podemos apreciar un aumento de un segmento a otro, pero igualmente al anterior, por ser una baja cantidad de observaciones, no alcanza la significancia estadística ( $p=0.1996$ ).

Ahora bien, al hacer un estudio aún más específico, seleccionando solo los casos en que hubo intervenciones en los tres bloques de privación obtenemos los siguientes resultados:

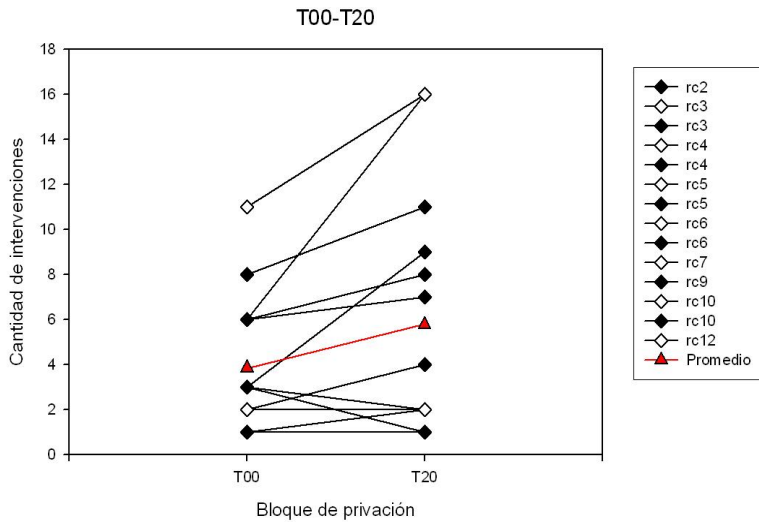


Gráfico 2.4. Cantidad de intervenciones por rata durante el primer y segundo bloque de 20 minutos de privación.

Al comparar el primer y segundo bloque de 20 minutos de privación (Gráfico 2.4), logramos observar un aumento, el cual al realizar el análisis estadístico resulta ser significativo ( $p=0.0419$ ).

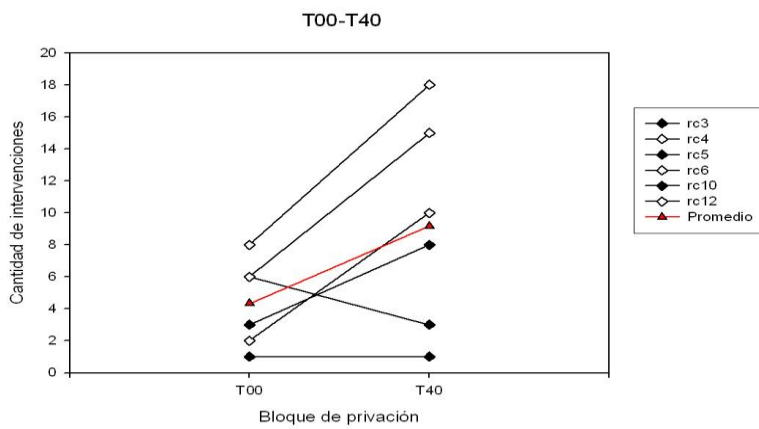


Gráfico 2.5. Cantidad de intervenciones por rata durante el primer y tercer bloque de 20 minutos de privación.

Luego al analizar el primer y tercer bloque de privación (Gráfico 2.5), al igual que las ocasiones anteriores, si bien se ve un marcado aumento, por el bajo número de observaciones, al realizar el análisis estadístico, el alza es muy cercana a la significancia ( $p=0.0746$ ).

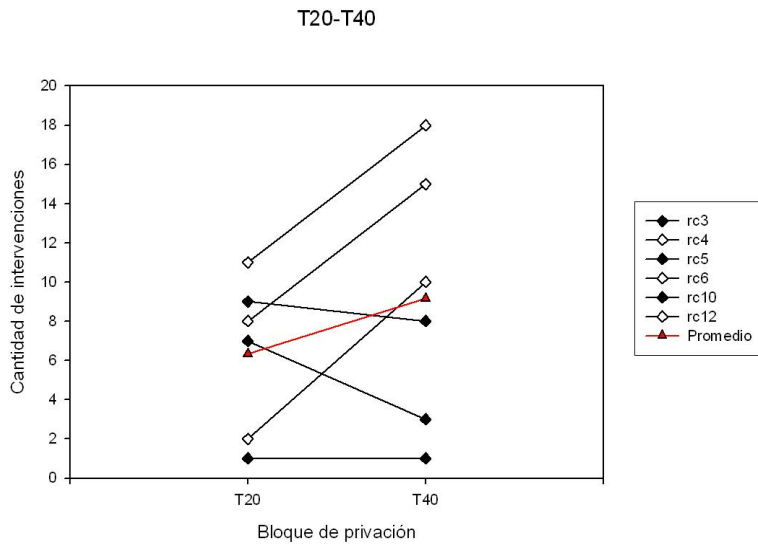


Gráfico 2.6. Cantidad de intervenciones por rata durante el segundo y tercer bloque de 20 minutos de privación.

Finalmente al realizar el análisis estadístico para el segundo y tercer bloque (Gráfico 2.6), no obtenemos una significancia en el aumento entre un bloque y otro ( $p=0.2329$ ), esto por la baja cantidad de observaciones, ya mencionado anteriormente.

En los gráficos 3.1 a 3.6 se muestra la hora previa al periodo de recuperación para cada una de las 12 ratas.

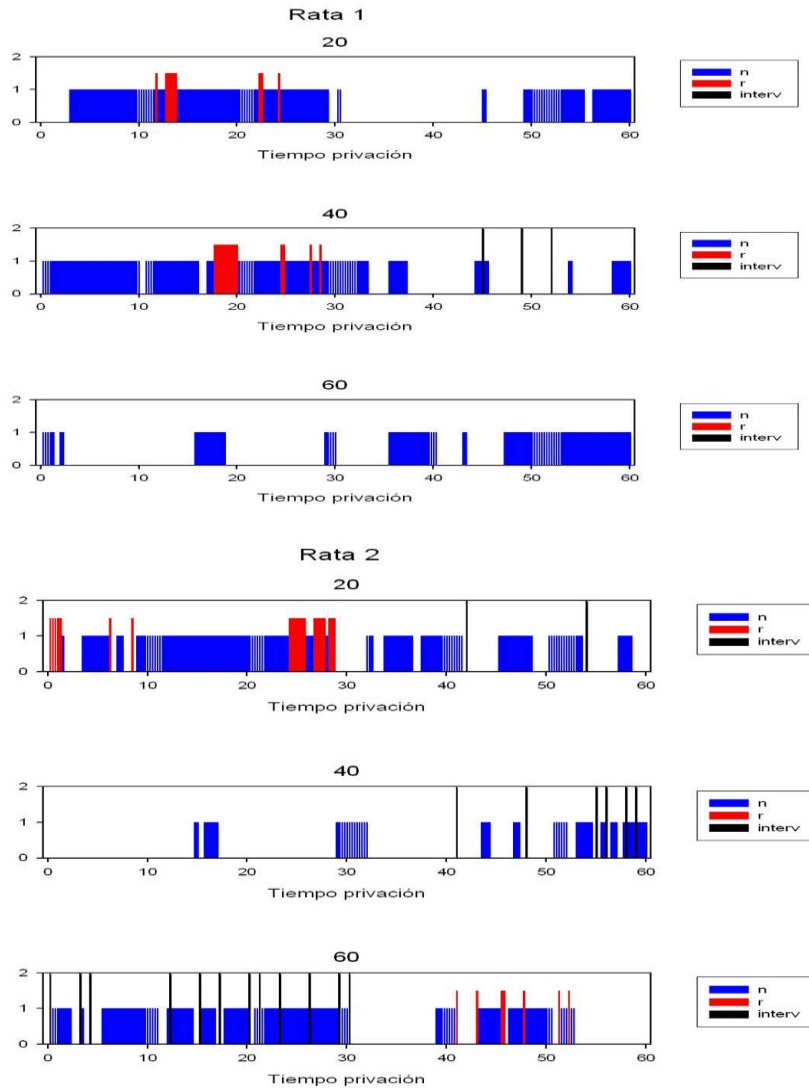


Gráfico 3.1. Hora previa al periodo de recuperación para las ratas 1 y 2. Para el paradigma de 20 minutos, los 20 minutos finales de la hora corresponden a la privación, para el de 40 minutos, los 40 minutos finales corresponden a la privación y para el de 60 minutos, la hora completa corresponde a la privación; el color azul representa el NREM (n), el rojo el REM (r) y el color negro corresponden a las intervenciones.

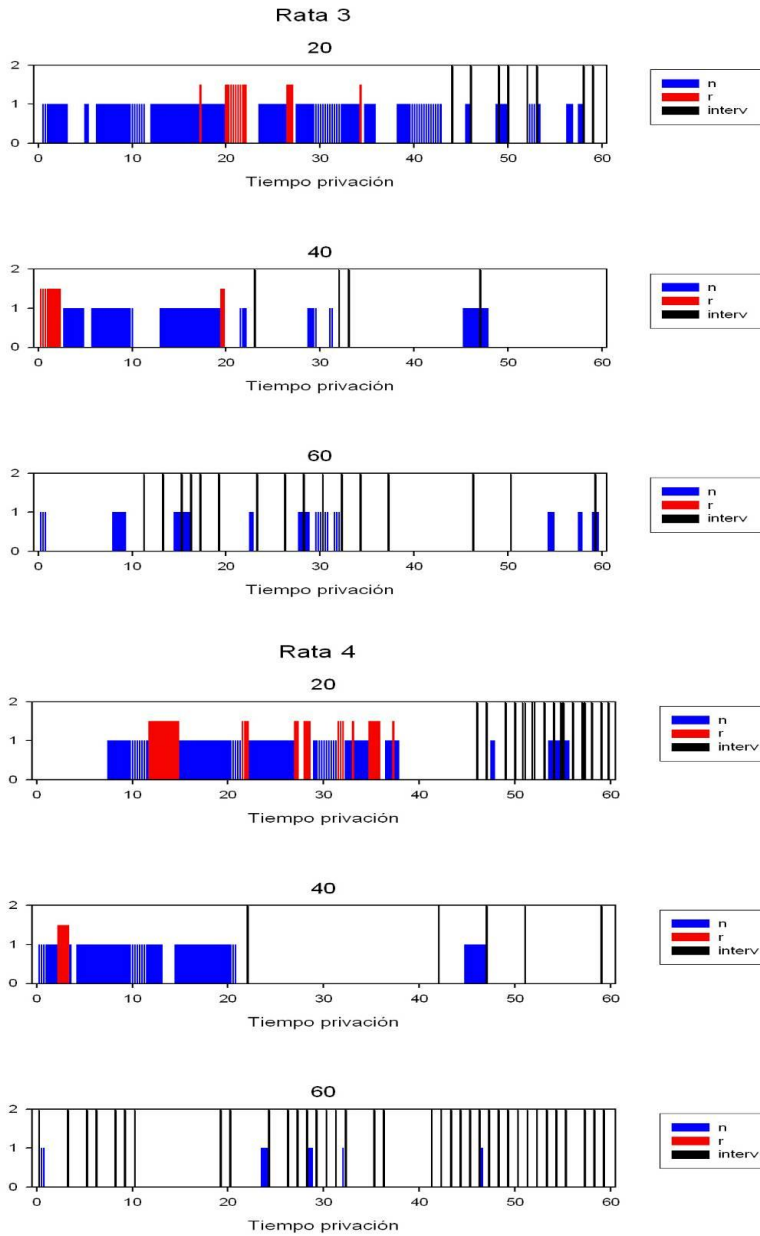


Gráfico 3.2. Hora previa al periodo de recuperación para las ratas 3 y 4. (Ver leyenda en Gráfico 3.1)

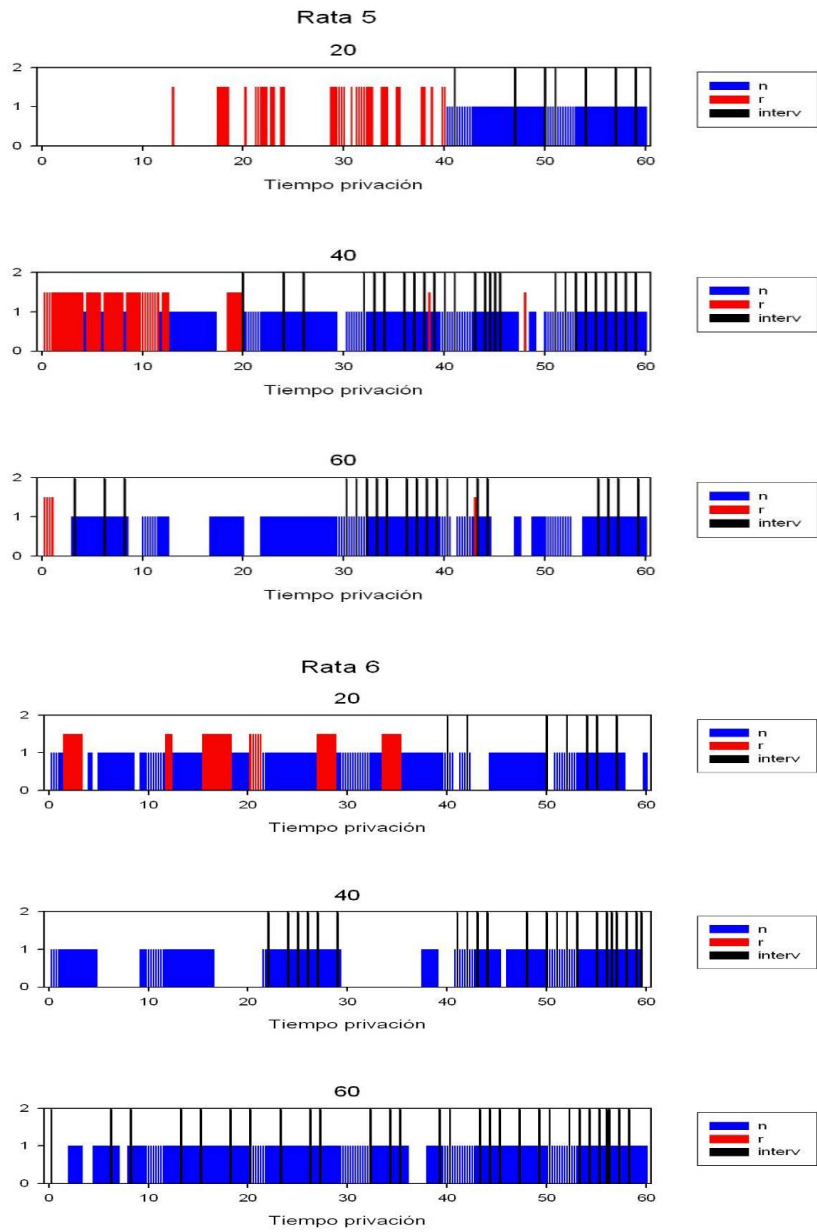


Gráfico 3.3. Hora previa al periodo de recuperación para las ratas 5 y 6. (Ver leyenda en Gráfico 3.1)

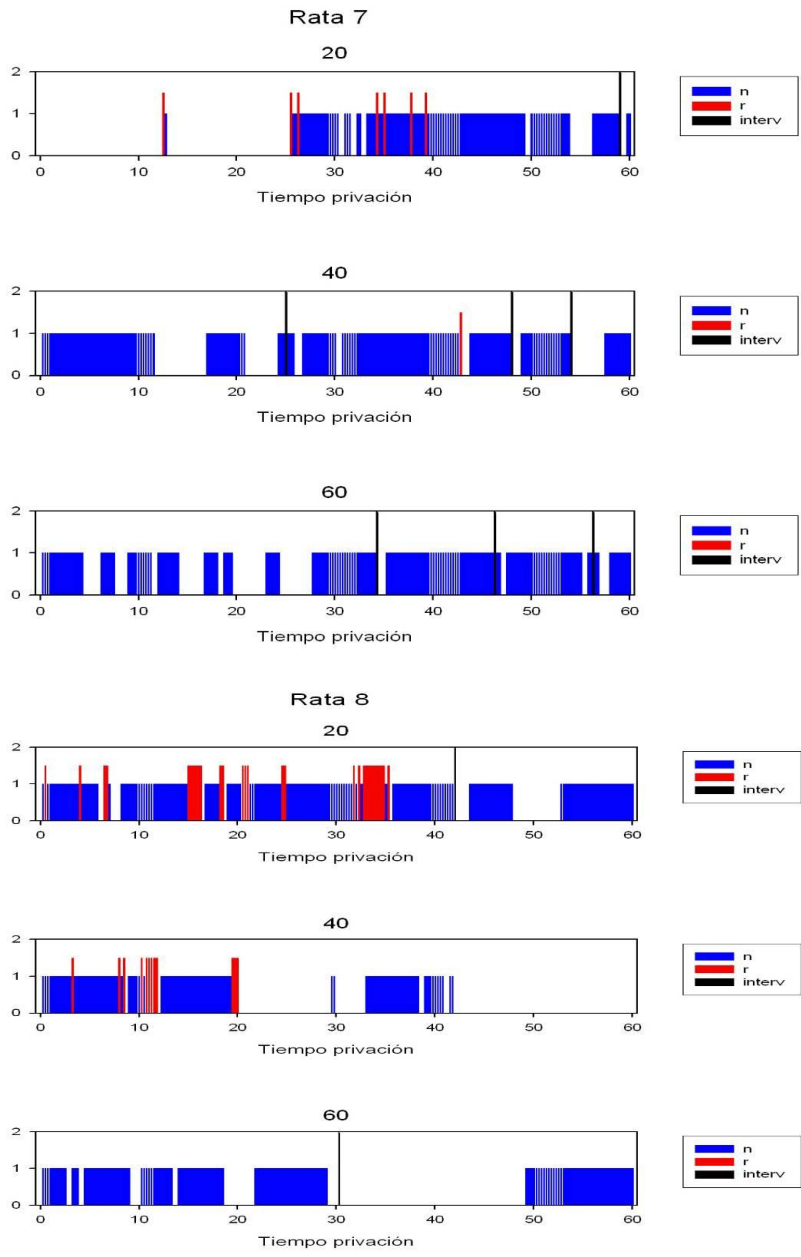


Gráfico 3.4. Hora previa al periodo de recuperación para las ratas 7 y 8. (Ver leyenda en Gráfico 3.1)



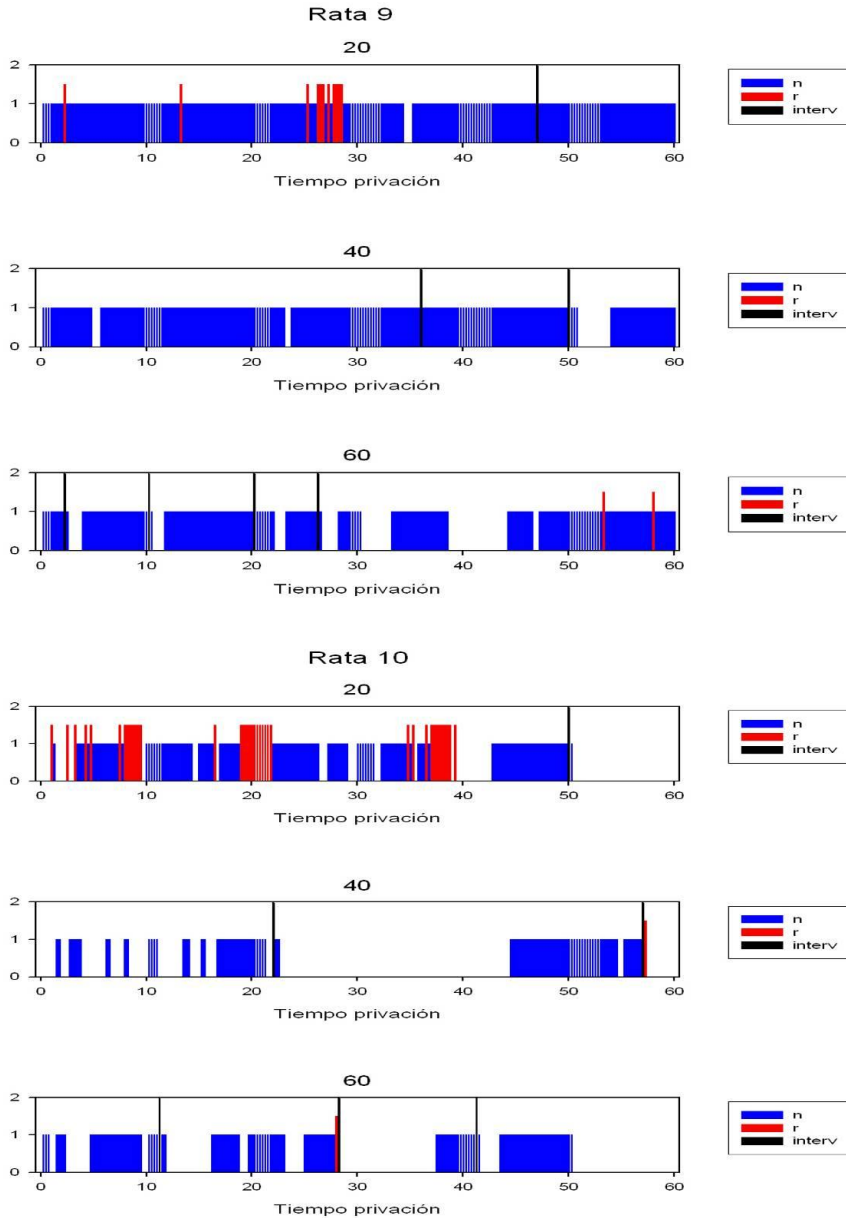


Gráfico 3.5. Hora previa al periodo de recuperación para las ratas 9 y 10. (Ver leyenda en Gráfico 3.1)

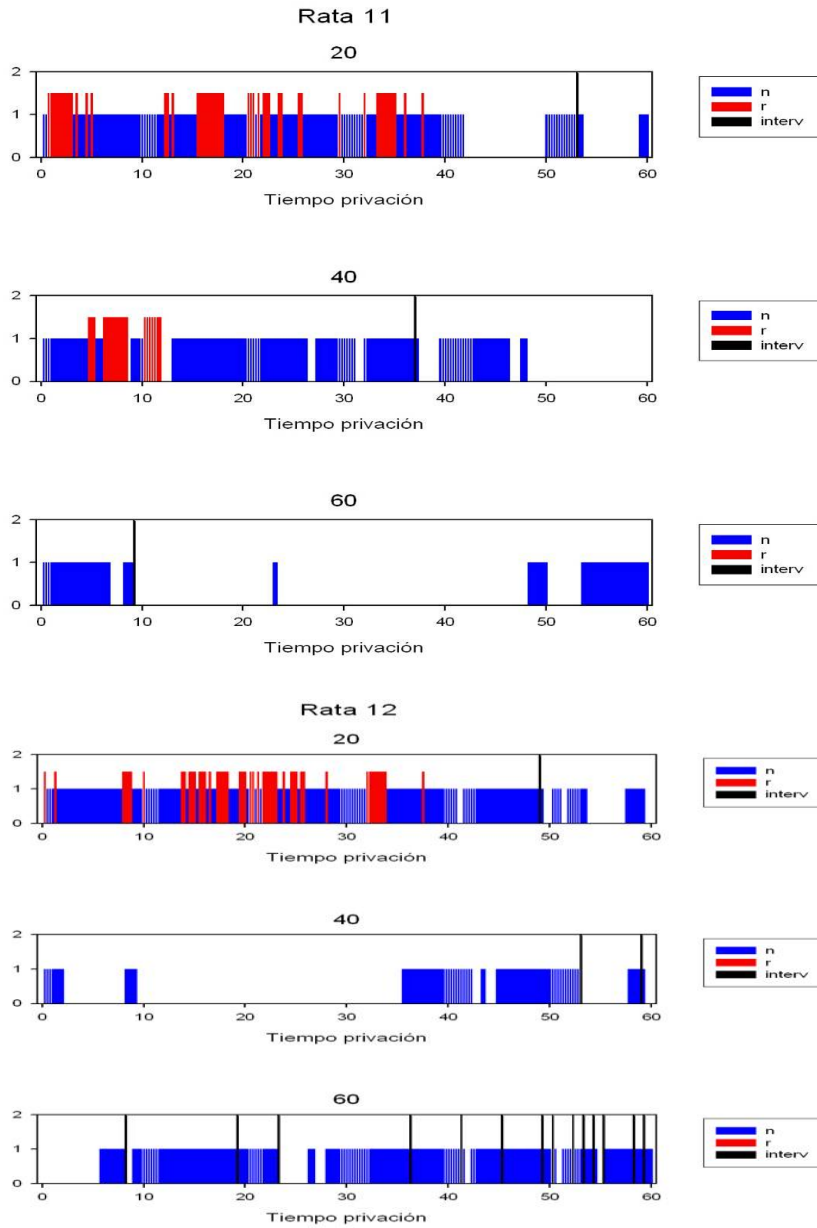


Gráfico 3.6. Hora previa al periodo de recuperación para las ratas 11 y 12. (Ver leyenda en Gráfico 3.1)

Es así como en los gráficos 3.1 a 3.6 se puede apreciar ~~claramente~~ la diferencia entre las privaciones con el método 1 (ratas 1 a 6) y con el método 2 (ratas 7 a 12); las ratas privadas mediante el primer método presentan un mayor número de intervenciones y a la vez mucho más continuas en el tiempo. Por el contrario los individuos privados con el método 2 presentan una menor cantidad de intervenciones y con un mayor lapso de tiempo entre ellas, lo que hace suponer que el segundo método sería más efectivo en el sentido de que su efecto es más prolongado al momento de privar.

Distribución de intervalos entre intervenciones durante cada paradigma

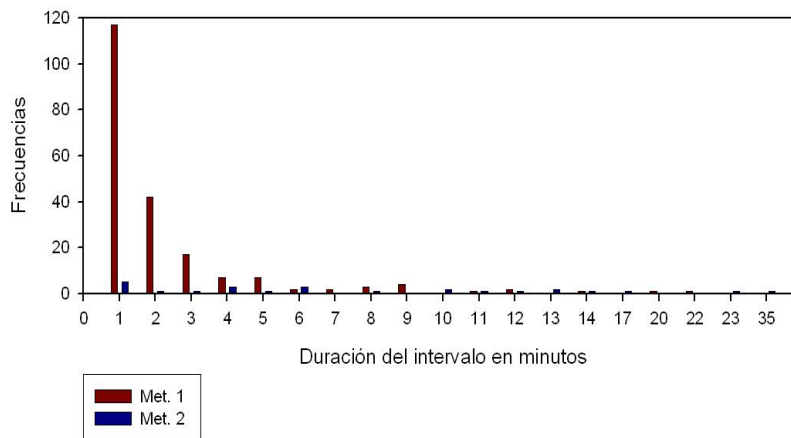


Gráfico 4. Distribución de frecuencias del tiempo de duración de los intervalos entre intervenciones para los dos métodos de privación.

Al analizar el gráfico 4 se aprecia ~~claramente~~ que, efectivamente, con el primer método existen muchos intervalos entre intervenciones que duran 5 minutos o menos ~~lo que en cierto modo demuestra la hipótesis acerca de que el método 2 es más efectivo a la hora de privar.~~

Ahora si sólo tomamos en cuenta aquellos intervalos que duran más de 5 minutos la distribución de frecuencias se equipara (gráfico 5):

Distribución de intervalos entre intervenciones durante cada paradigma

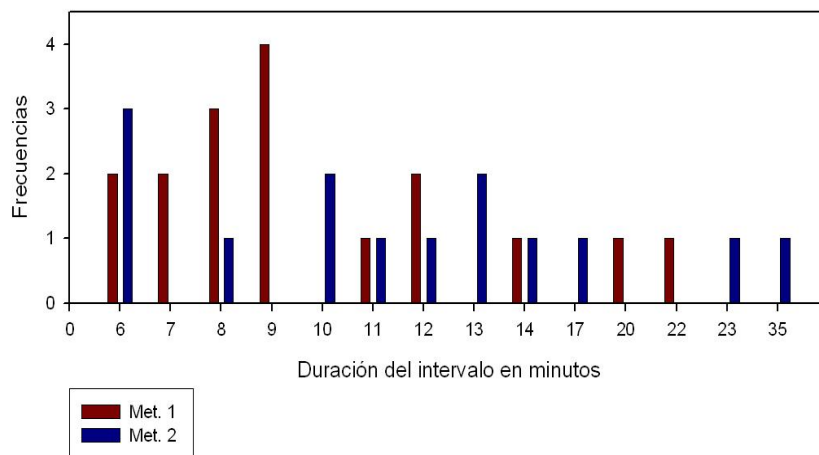


Gráfico 5. Distribución de frecuencias del tiempo de duración de los intervalos, mayores a 5 minutos de duración, entre intervenciones para los dos métodos de privación

## 1.2. NREM y Vigilia:

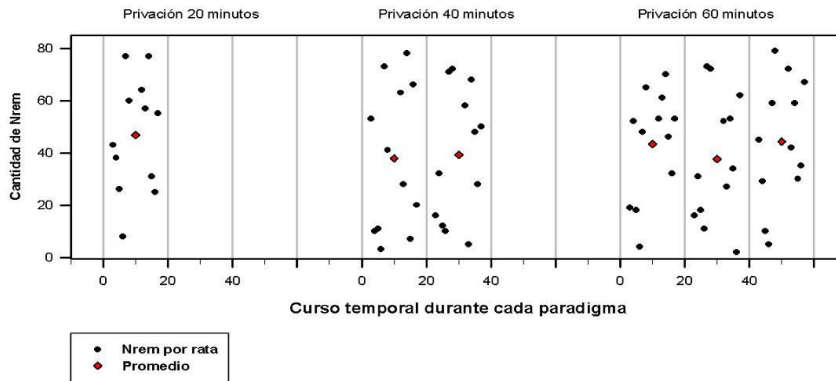


Gráfico 6. Distribución, en épocas, del NREM por rata, durante cada paradigma de privación, en bloques de 20 minutos.

~~Sin hacer ningún análisis estadístico en particular, a simple vista se~~ puede observar en el gráfico 6 una gran dispersión en la cantidad de NREM entre las 12 ratas, pero el promedio para cada bloque de 20 minutos por paradigma tiende a ser similar entre ellos.

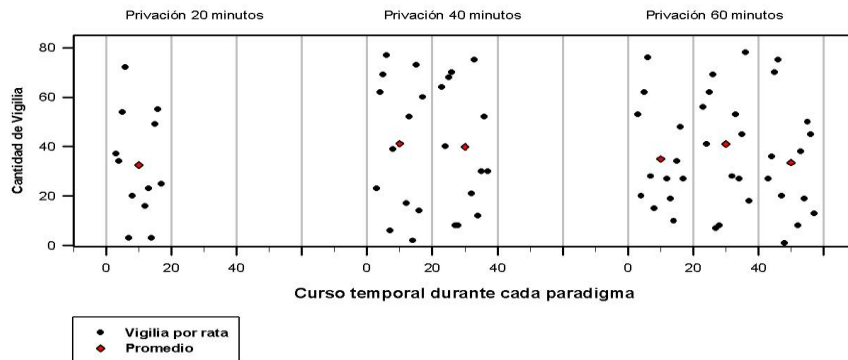


Gráfico 7. Distribución, en épocas, de la Vigilia por rata, durante cada paradigma de privación, en bloques de 20 minutos.

Igualmente que el NREM la vigilia (gráfico 7) tiende a permanecer similar en su promedio entre los bloques de 20 minutos de privación.

No está de más destacar que si se observan los gráficos 6 y 7 en conjunto, mirando los promedios, podemos darnos cuenta de que al aumentar la vigilia disminuye el NREM y viceversa.

## 2. Recuperación:

### 2.1 REM:

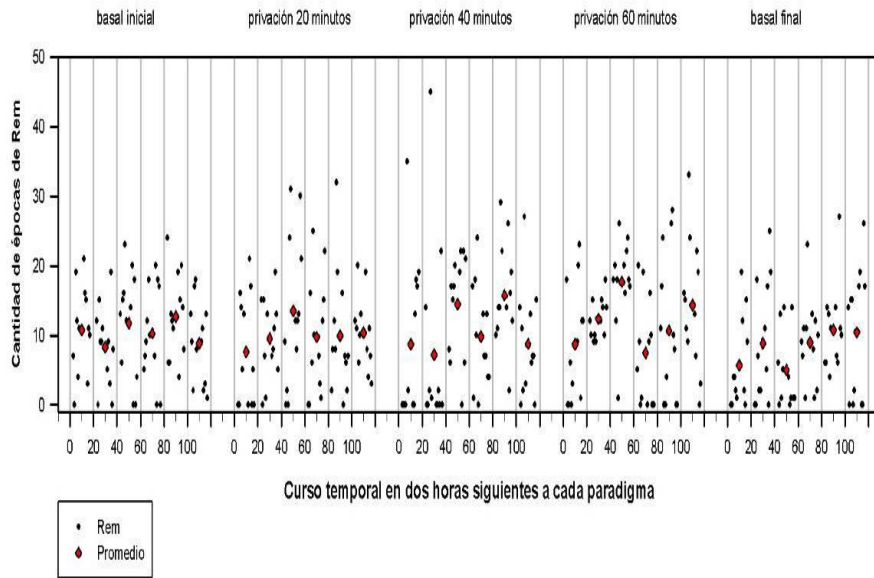


Gráfico 8. Distribución, en épocas, del REM por rata, durante las 2 horas de recuperación, en bloques de 20 minutos.

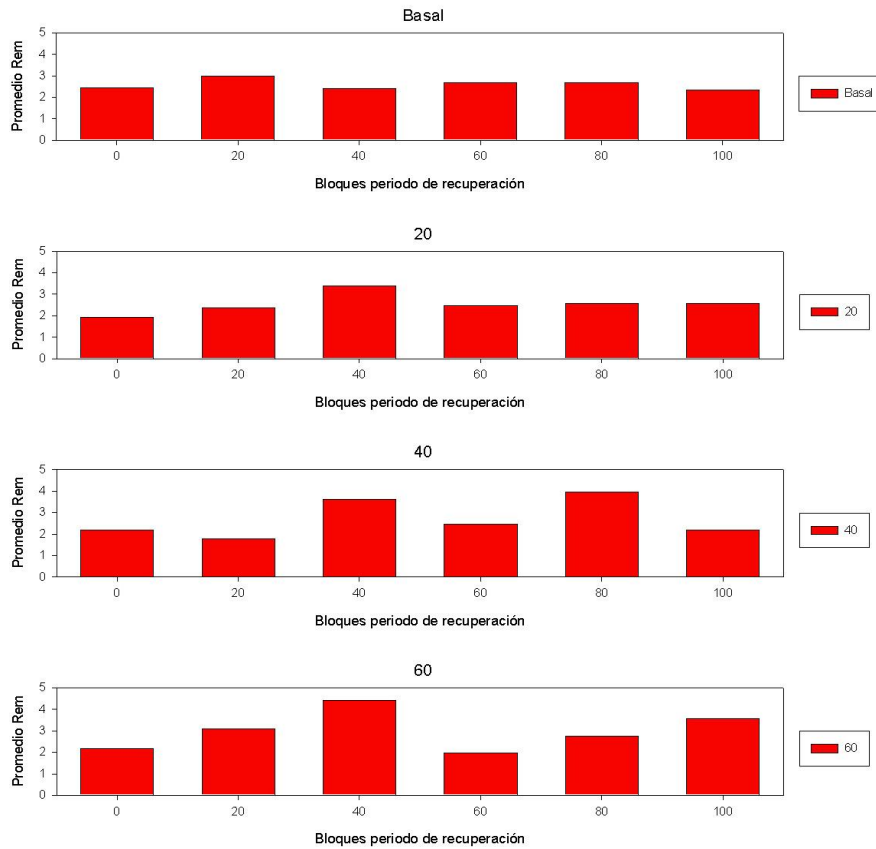


Gráfico 9. Promedio de duración de REM en bloques de 20 minutos para cada paradigma.

En el gráfico nº 8 podemos apreciar el comportamiento del número de épocas de REM en bloques de 20 minutos para cada una de las 12 ratas y los respectivos promedios por intervalo, durante el periodo de 2 horas de recuperación para cada paradigma, y en el gráfico nº 9 podemos observar con mayor claridad el comportamiento del los promedios, pero esta vez en relación al tiempo de duración de éstos durante los bloques de 20 minutos de las 2 horas de recuperación. Al hacer un simple análisis visual de los promedios (gráfico 9) podemos observar que en los 3 paradigmas de privación tiende a



haber un aumento ~~más o menos marcado~~ en la cantidad de REM durante la primera hora de recuperación.

Al realizar el Student's  $t$ -Test pareado, entre el promedio de cada bloque de 20 minutos para cada paradigma y los respectivos promedios por bloque de 20 minutos basales, se concluyó que para el paradigma de 20 minutos de privación el aumento observado en cada uno ninguno de los bloques no alcanzaba, sin embargo, nivel de significancia ~~presenta un aumento significativo~~ en la cantidad de REM con respecto al promedio basal.

Para el paradigma de 40 minutos de privación se observó que solamente el tercer bloque de 20 minutos (40 a 60 minutos) de recuperación presenta un aumento que el cual tendería a ser significativo ( $p=0.1019$ ).

Finalmente en el paradigma de 60 minutos de privación, al realizar el Student's  $t$ -Test pareado, se observó que el tercer bloque de 20 minutos (40 a 60 minutos) de recuperación presenta un aumento significativo con respecto al promedio del correspondiente bloque basal ( $p=0.0165$ ).

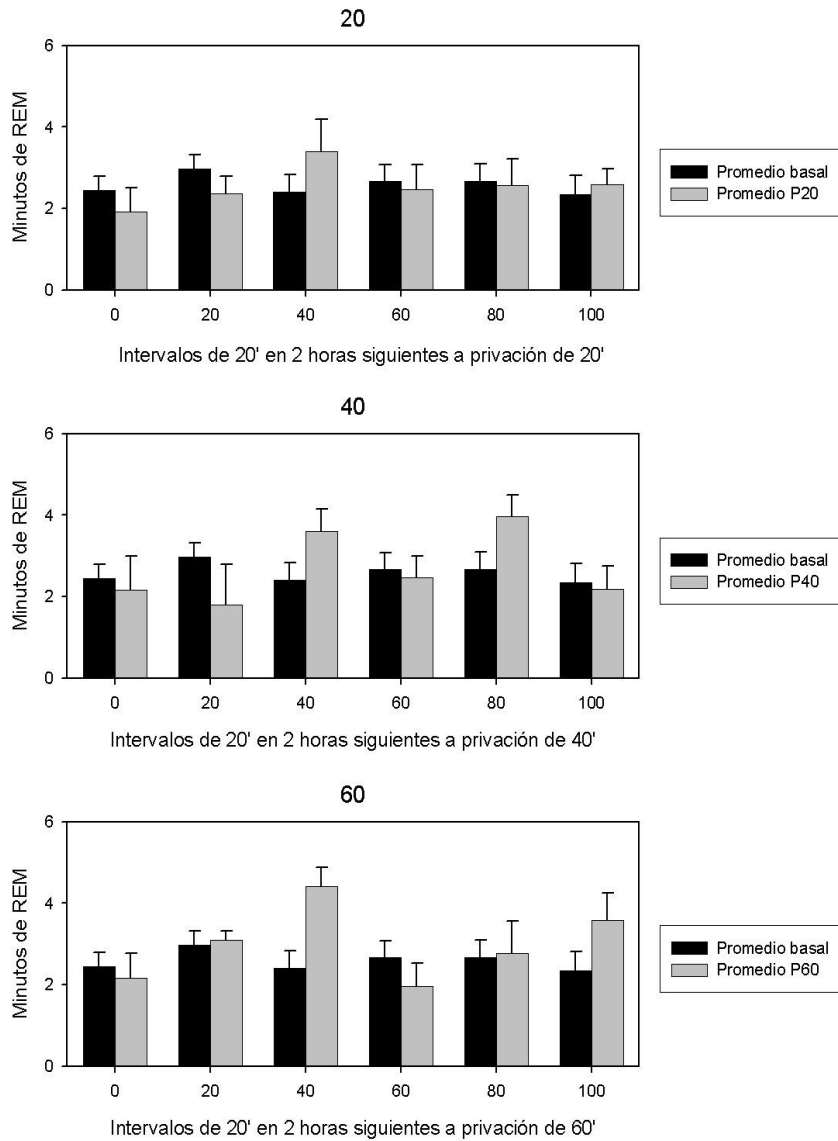


Gráfico 10. Comparación del promedio de duración de REM en minutos durante el paradigma basal, con cada uno de los tres paradigmas de privación.

Al analizar el gráfico nº 10 se logra apreciar lo recientemente mencionado, por lo demás se puede agregar que en los 3 paradigmas de privación al cumplirse la hora de recuperación tiende a haber un aumento en la cantidad de REM con respecto a los niveles basales.

Con el fin de hacer más completo el análisis se realizó el Student's *t*-Test pareado tanto para la vigilia como para el NREM durante el periodo de recuperación de cada paradigma comparándolos, al igual que el REM, con los respectivos promedio basales de cada bloque.

## 2.2 NREM:

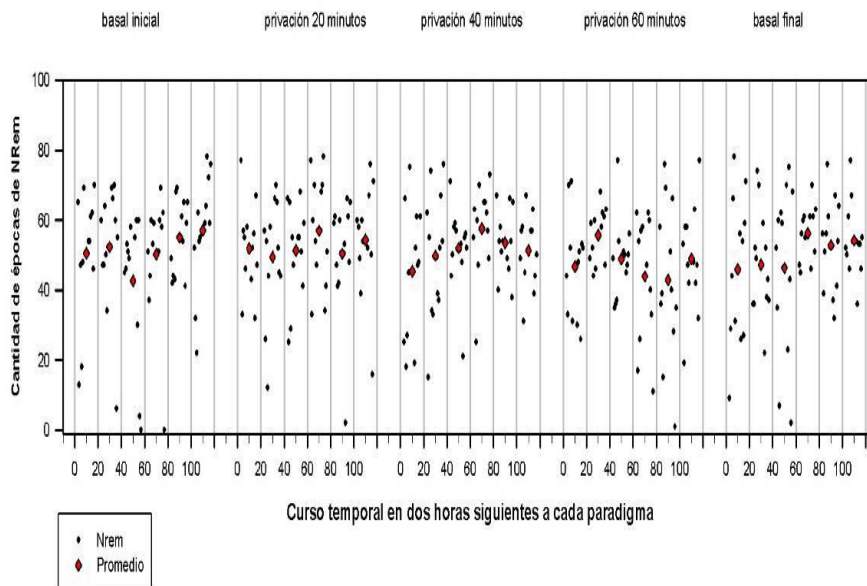


Gráfico 11. Distribución, en épocas, del NREM por rata, durante las 2 horas de recuperación, en bloques de 20 minutos.

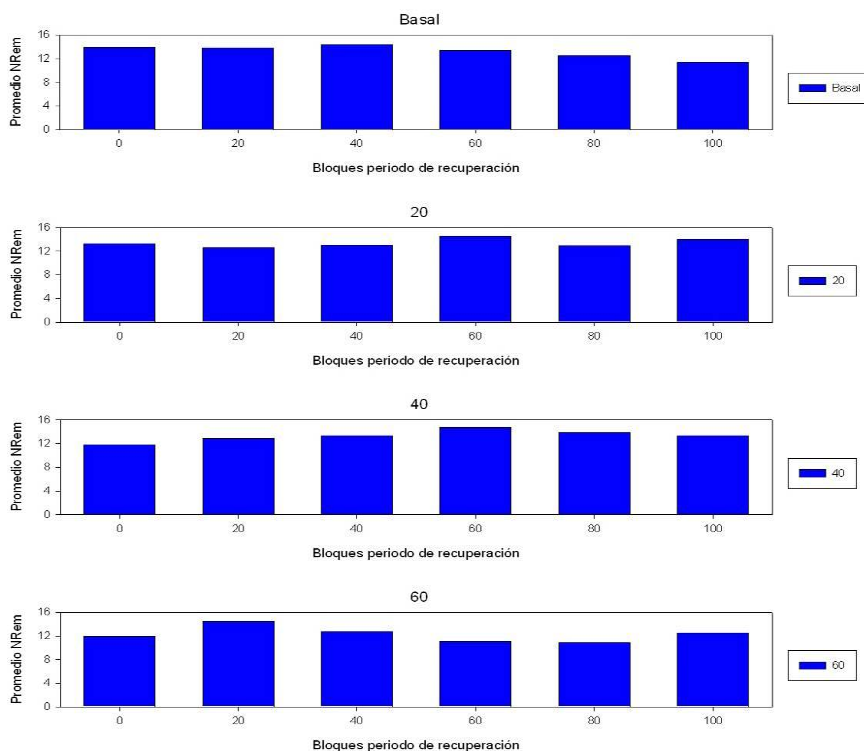


Gráfico 12. Promedio de duración de NREM en bloques de 20 minutos para cada paradigma.

En el gráfico nº 11, al igual que para REM, se aprecia el comportamiento del número de épocas de NREM en bloques de 20 minutos para cada una de las 12 ratas y los respectivos promedios por intervalo, durante el periodo de 2 horas de recuperación para cada paradigma, y en el gráfico nº 12 se observa el comportamiento de los promedios en relación al tiempo de duración de estos durante los bloques de 20 minutos de las 2 horas de recuperación.

Al realizar el Student's  $t$ -Test pareado, entre el promedio de cada bloque de 20 minutos para cada paradigma y los respectivos promedios por bloque de 20 minutos

basales tenemos que para el paradigma de 20 minutos de privación solamente el sexto bloque de 20 minutos de recuperación presenta un aumento con respecto a su promedio basal que tiende ~~con gran cercanía~~ a ser significativo ( $p=0.0651$ ).

Para el paradigma de 40 minutos de privación ninguno de los bloques de 20 minutos de recuperación presenta una diferencia significativa respecto de su correspondiente promedio basal.

Finalmente, para el paradigma de 60 minutos de privación tampoco existe un aumento significativo con respecto al promedio basal en alguno de los bloques de recuperación de 20 minutos, pero si el tercer bloque de recuperación de 20 minutos presenta una disminución significativa con respecto a su promedio basal para el periodo de recuperación de este paradigma ( $p=0.0308$ ).

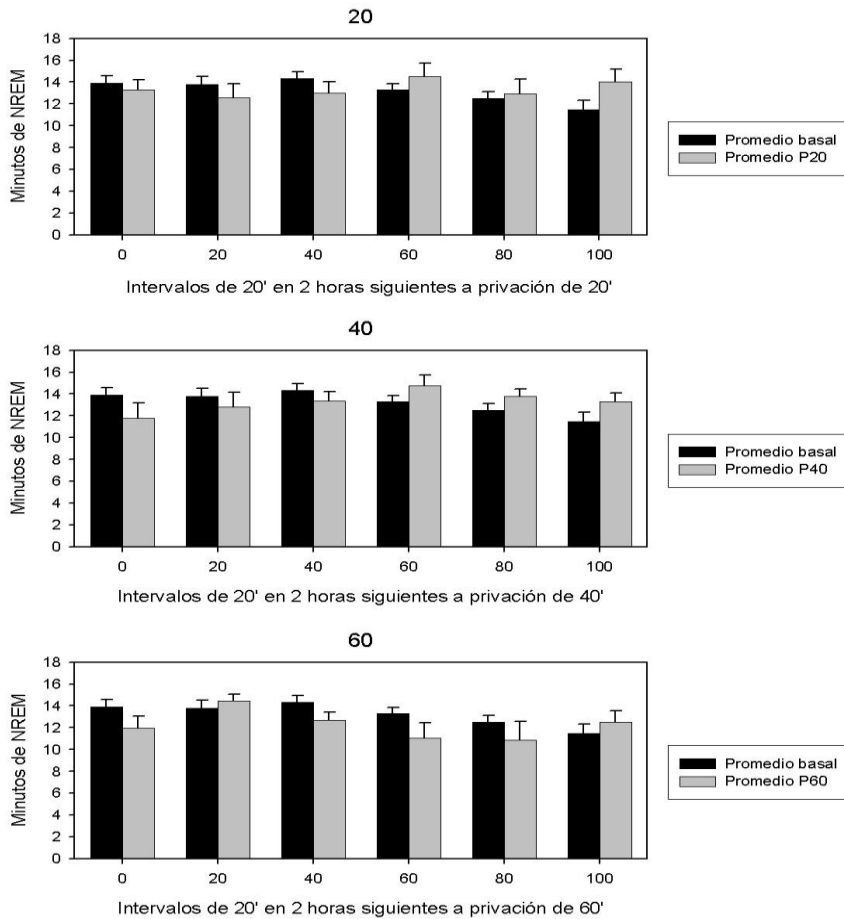


Gráfico 13. Comparación del promedio de duración de NREM en minutos durante el paradigma basal, con cada uno de los tres paradigmas de privación.

Al observar el gráfico 13 de recuperación de NREM para cada paradigma, se puede apreciar que sobre todo para la primera hora, tiende a haber una disminución en la cantidad de NREM con respecto a la línea de base lo que podría ser interpretado en cierta medida como que le cede tiempo del periodo de sueño al REM.

### 2.3 Vigilia:

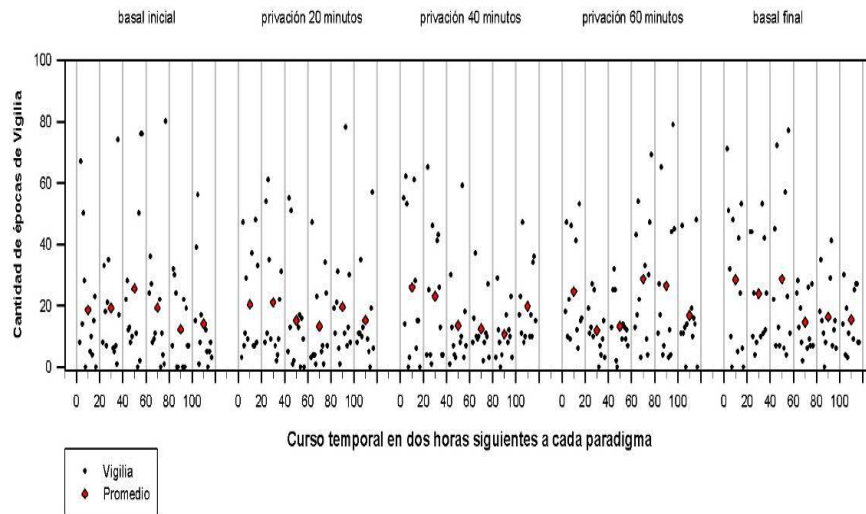


Gráfico 14. Distribución, en épocas, de la Vigilia por rata, durante las 2 horas de recuperación, en bloques de 20 minutos.

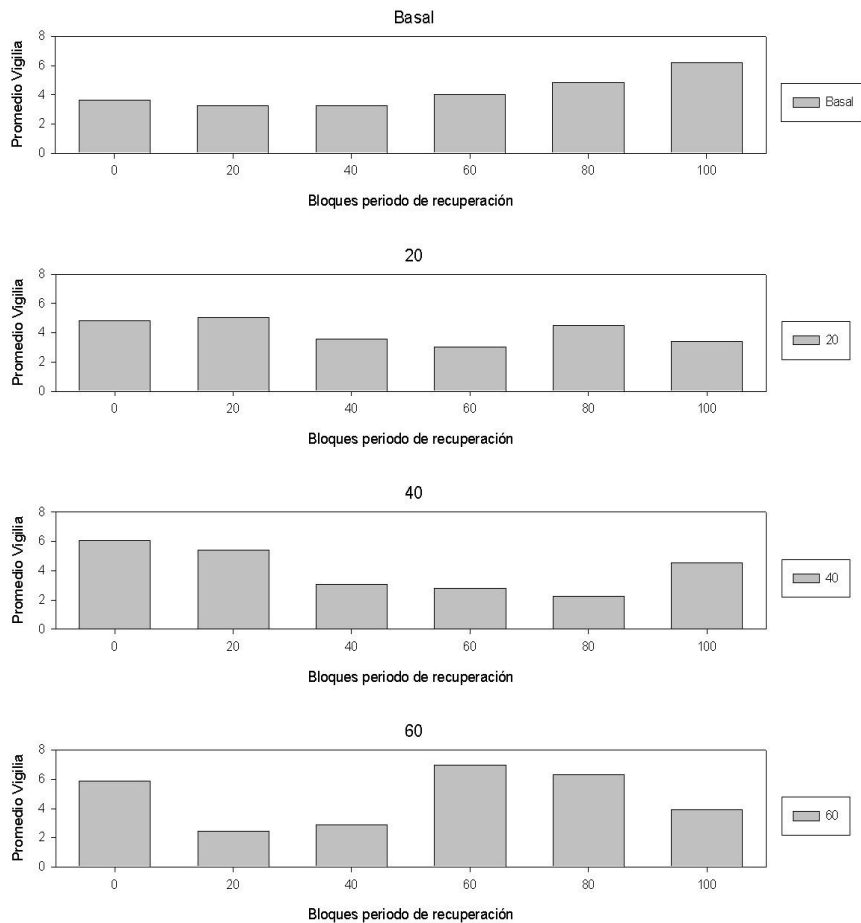


Gráfico 15. Promedio de duración de la Vigilia en bloques de 20 minutos para cada paradigma.

Nuevamente el gráfico n° 14, al igual que los anteriores, representa el comportamiento del número de épocas de vigilia en bloques de 20 minutos para cada una de las 12 ratas y los respectivos promedios por intervalo, durante el periodo de 2 horas de recuperación para cada paradigma, y en el gráfico n° 15 se observa el comportamiento de



los promedios en relación al tiempo de duración de estos durante los bloques de 20 minutos de las 2 horas de recuperación.

Ahora, si realizamos el Student's  $t$  -Test pareado, entre el promedio de cada bloque de 20 minutos para cada paradigma y los respectivos promedios por bloque de 20 minutos basales en el caso de la vigilia, tenemos que para el paradigma de 20 minutos de privación el último bloque de 20 minutos del periodo de recuperación presenta una disminución en cantidad con respecto a su promedio basal que tiende con gran cercanía a ser significativa ( $p=0.0969$ ).

Para el paradigma de 40 minutos de privación podemos apreciar que el quinto bloque de 20 minutos del periodo de recuperación presenta una disminución significativa con respecto a su línea de base ( $p=0.0397$ ).

En el caso del paradigma de 60 minutos de privación encontramos que, al igual que para el paradigma de 20 minutos, el sexto bloque de 20 minutos presenta una disminución con respecto a su basal que tiende con mayor precisión a ser significativa ( $p=0.0631$ ) para esta etapa del periodo de recuperación del paradigma anteriormente mencionado.

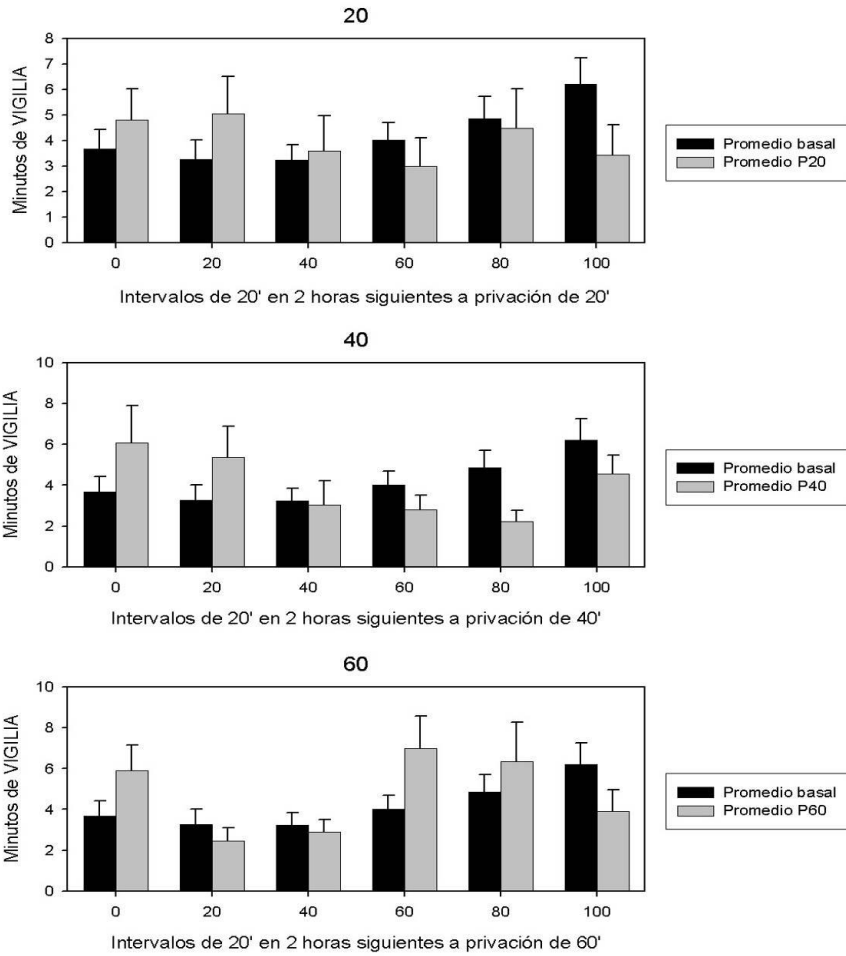


Gráfico 16. Comparación del promedio de duración de Vigilia en minutos durante el paradigma basal, con cada uno de los tres paradigmas de privación.

En el gráfico nº 16 podemos apreciar lo anteriormente mencionado, el que significativamente no haya diferencias sustanciales entre los distintos paradigmas para la vigilia, nos podría guiar hacia el hecho que el rebote de REM va en desmedro del tiempo de NREM más que de el tiempo de vigilia.

Para complementar todo lo anteriormente dicho con respecto a los tres estados durante el periodo de recuperación, se adjuntan gráficos individuales por rata para cada paradigma.

**Comportamiento individual de cada rata:**

En los gráficos 17.1 a 17.6 se muestra para cada rata y cada paradigma la incidencia en minutos de los tres estados durante tres horas. Estas tres horas comprenden las dos horas de recuperación y la hora anterior. Esta hora anterior comprende, según el paradigma, 40 minutos basales y 20 de privación, 20 minutos basales y 40 de privación, o 60 de privación. Cada símbolo corresponde a 20 minutos y representa a uno de los tres paradigmas y los símbolos vacíos representan el periodo de privación. Para cada estado en cada rata se consideró además su incidencia en los 18 períodos de 20 minutos que corresponden a sus seis horas de registro basal en horario equivalente al experimental. (Recuérdese que el protocolo comprendía días de registro basal al comienzo y al final del estudio). En seguida se calculó el promedio e intervalo de confianza de 95% de esos 18 valores basales por estado y por rata, los que aparecen como líneas continuas y punteadas en los gráficos correspondientes. De este modo se puede obtener una idea al mirar los gráficos de cuán improbable es cada observación de cada bloque de 20 minutos para ese estado en el caso de esa rata. Nótese, a modo de ilustración, que todas las ratas tienen uno o más bloques de 20 minutos sobre el intervalo de confianza durante la recuperación especialmente tras la privación de 60 minutos



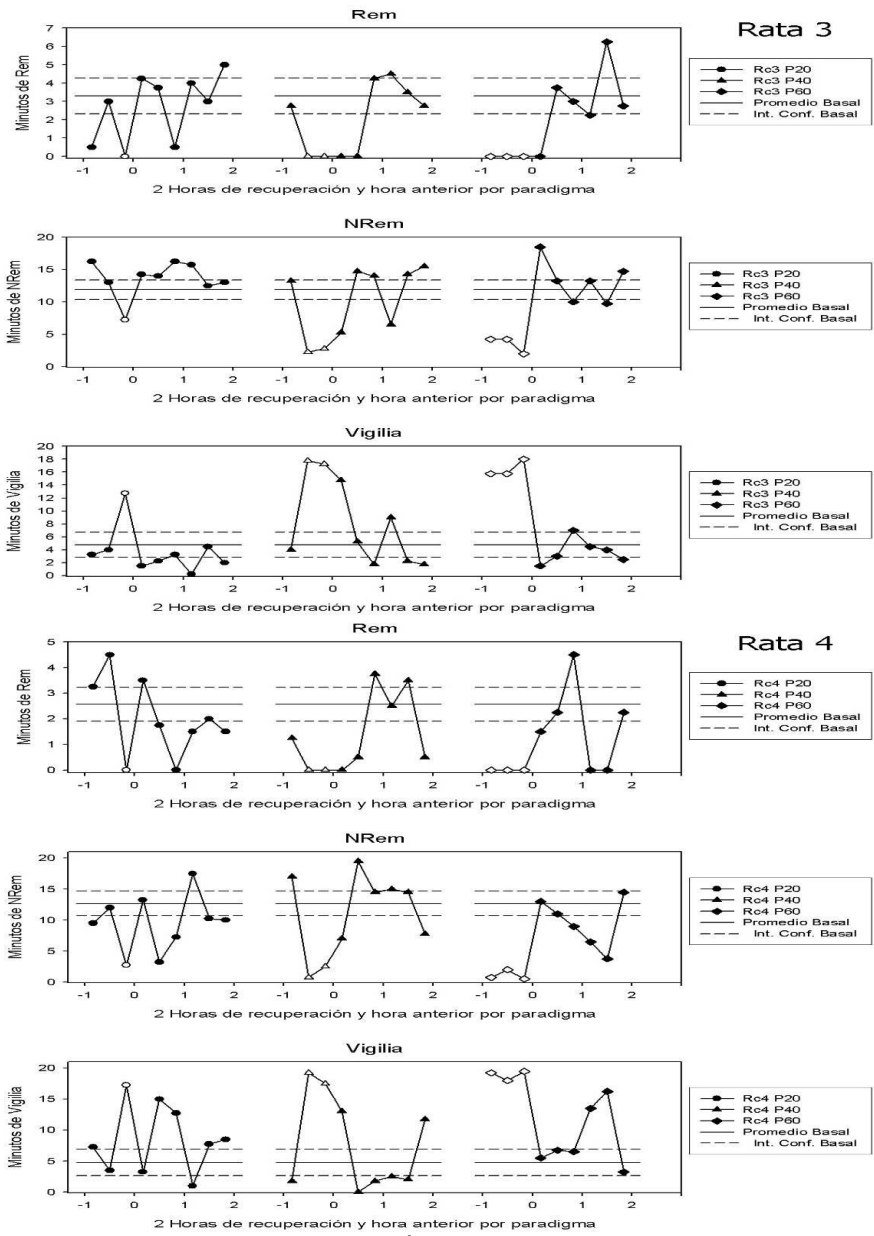


Gráfico 17.2. Comportamiento de la duración, en minutos, de REM, NREM y Vigilia durante la hora previa a la recuperación y las dos horas de recuperación para las Ratas 3 y 4. (Ver leyenda en Gráfico 17.1)

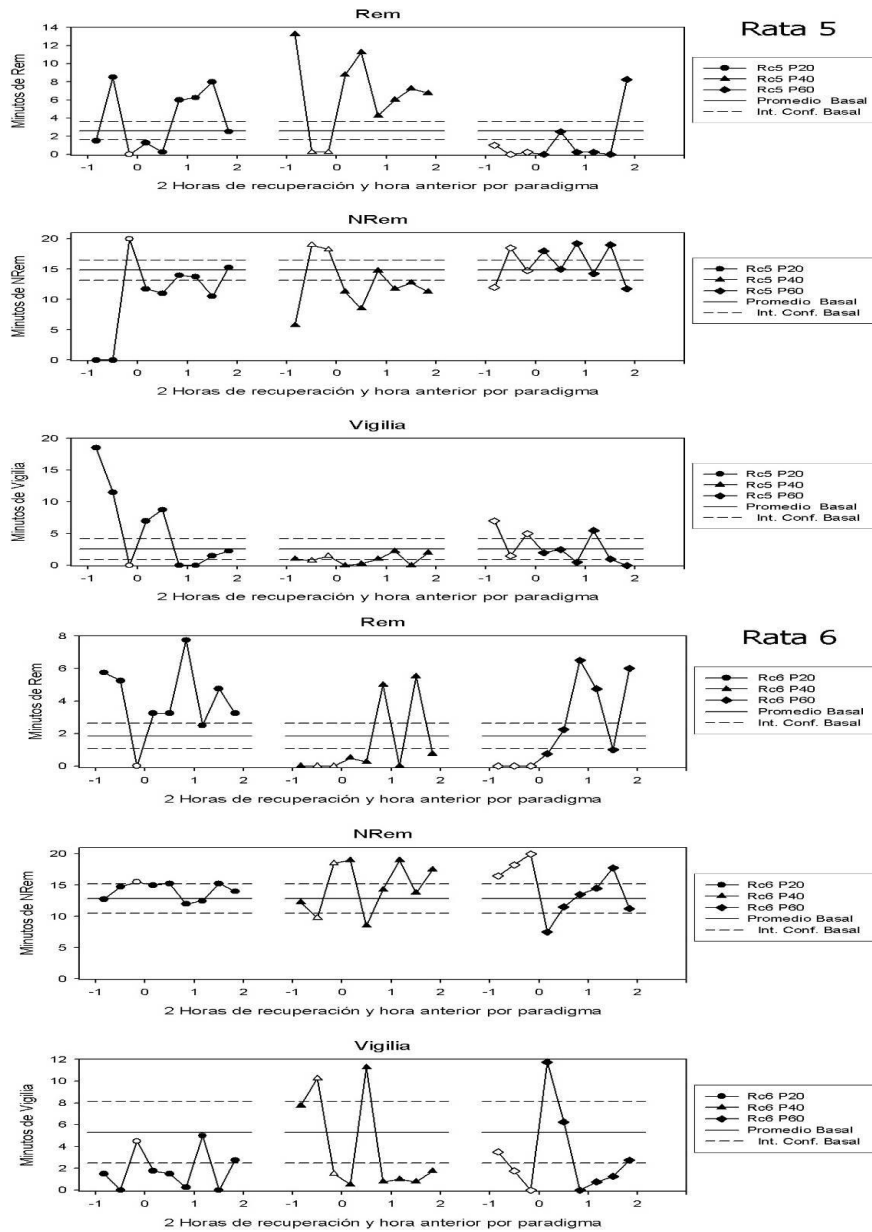


Gráfico 17.3. Comportamiento de la duración, en minutos, de REM, NREM y Vigilia durante la hora previa a la recuperación y las dos horas de recuperación para las Ratas 5 y 6. (Ver leyenda en Gráfico 17.1)

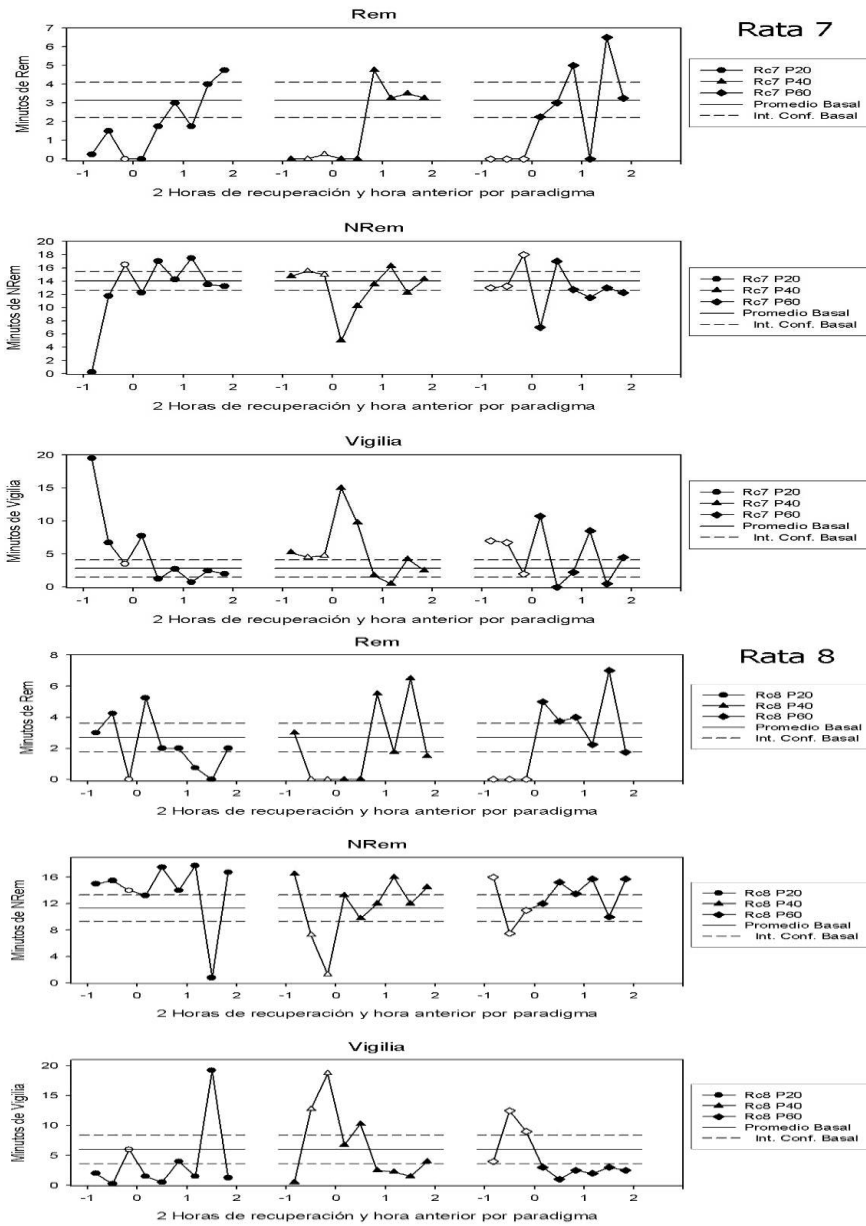


Gráfico 17.4. Comportamiento de la duración, en minutos, de REM, NREM y Vigilia durante la hora previa a la recuperación y las dos horas de recuperación para las Ratas 7 y 8. (Ver leyenda en Gráfico 17.1)

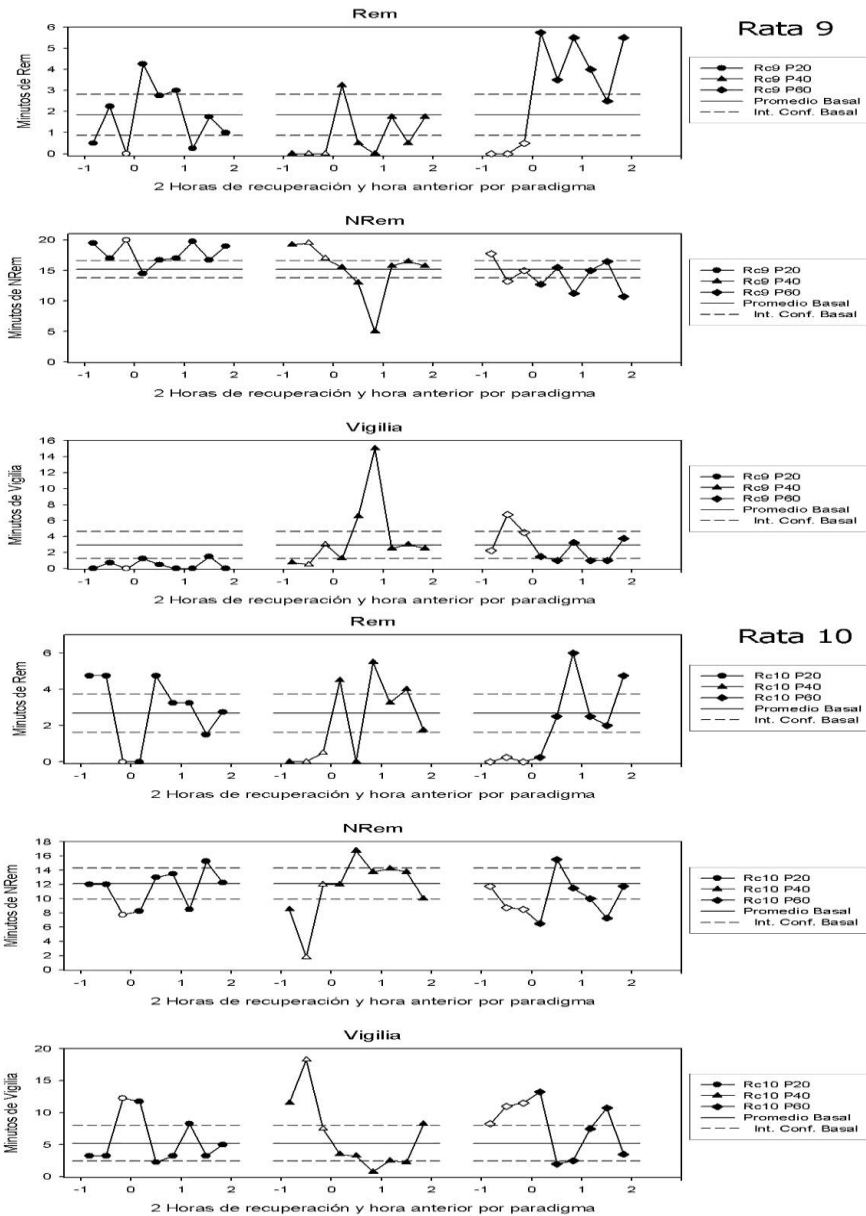
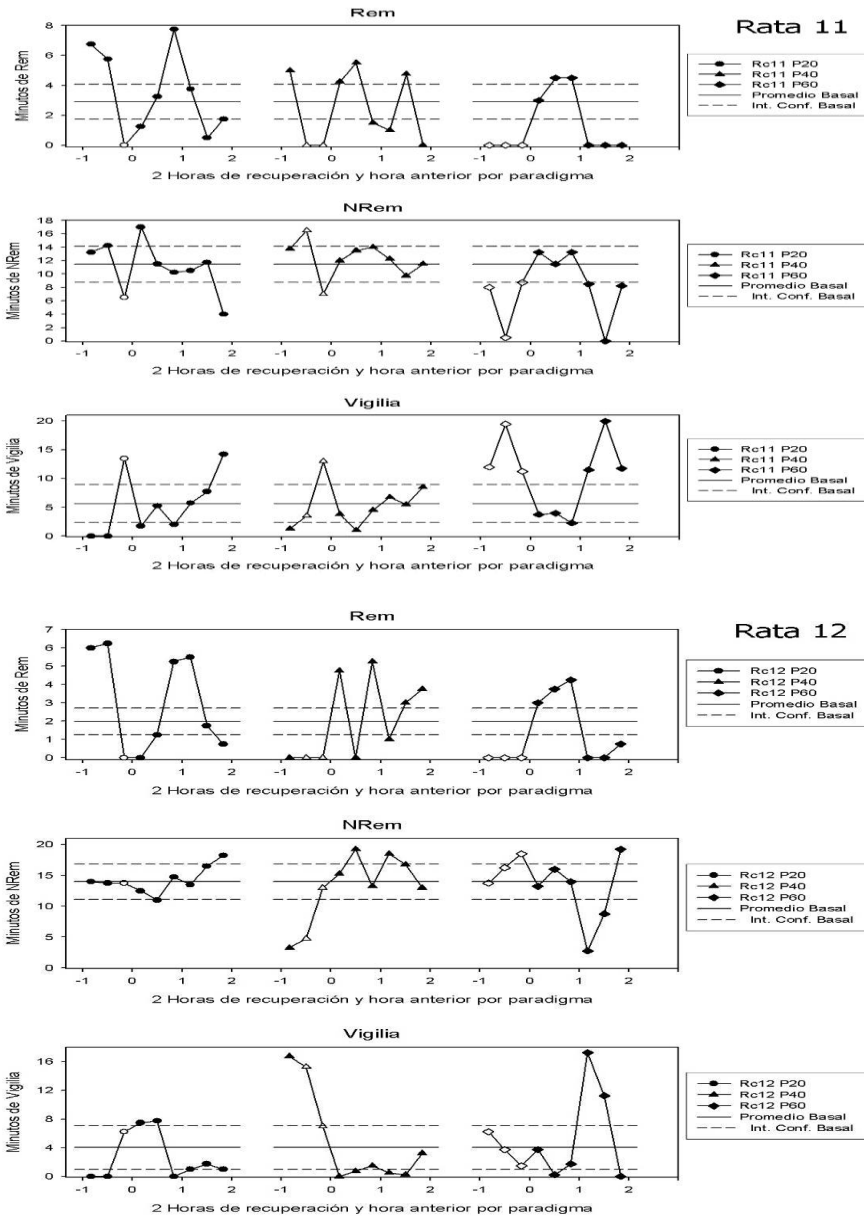


Gráfico 17.5. Comportamiento de la duración, en minutos, de REM, NREM y Vigilia durante la hora previa a la recuperación y las dos horas de recuperación para las Ratas 9 y 10. (Ver leyenda en Gráfico 17.1)





Con formato: Justificado, Sangría: Izquierda: 0,63 cm, Interlineado: sencillo

Gráfico 17.6. Comportamiento de la duración, en minutos, de REM, NREM y Vigilia durante la hora previa a la recuperación y las dos horas de recuperación para las Ratas 11 y 12. (Ver leyenda en Gráfico 17.1)

~~En los gráficos anteriores se muestra el comportamiento de los tres estados en minutos durante las dos horas de recuperación y una hora antes que empiece la recuperación; cada símbolo corresponde a 20 minutos y representa a uno de los tres paradigmas y los símbolos en blanco representan el periodo de privación. Si miramos con detención, podemos observar que las ratas 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 tienen una mayor duración de Rem que su promedio basal en al menos un bloque de 20 minutos durante la primera hora de recuperación; por otra parte las ratas 2, 4, 6, 7, 10, 11 y 12 presentan, durante la primera hora de recuperación, un ascenso con respecto al bloque anterior de 20 minutos.~~

Con formato: Nivel 1

#### **Episodios:**

En este caso el estudio de un episodio de cualquiera de los tres estados, va orientado a ver la duración promedio de los mismos por hora. Esto se presenta en el gráfico nº 18 de frecuencia, donde La hora 0 corresponde al tiempo previo a que se inicie el periodo de recuperación y las horas 1 y 2 corresponden al tiempo de recuperación.

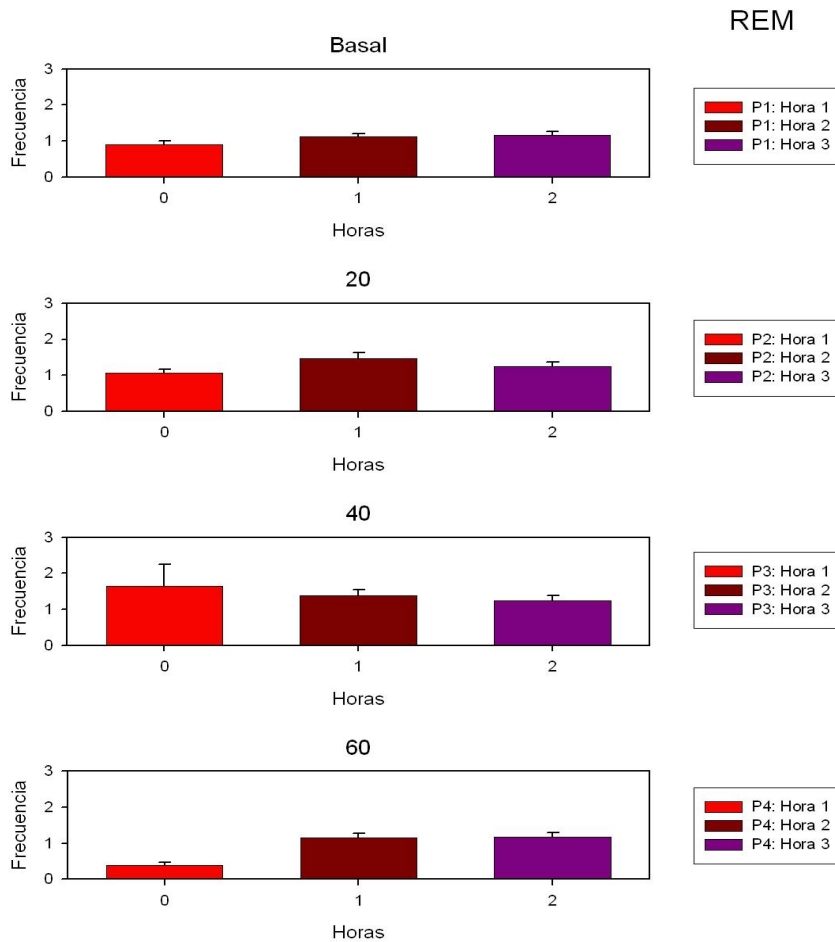


Gráfico 18. Promedio de duración de episodios de REM durante la hora previa a la recuperación y las dos horas de recuperación para cada paradigma. (Basal = promedio de los dos días basales)

Para este caso se realizó un Andeva, el cual no resultó ser significativo ( $p=0.1029$ ) para los distintos protocolos de privación. Por otra parte en el gráfico 18 se puede ver la evidente tendencia, en las 2 horas de recuperación, del aumento en el promedio de duración de los episodios de REM por sobre el basal, para los 3 paradigmas de privación,

además de que dentro de cada paradigma, tiende a ser constante el promedio en las 2 horas de recuperación.

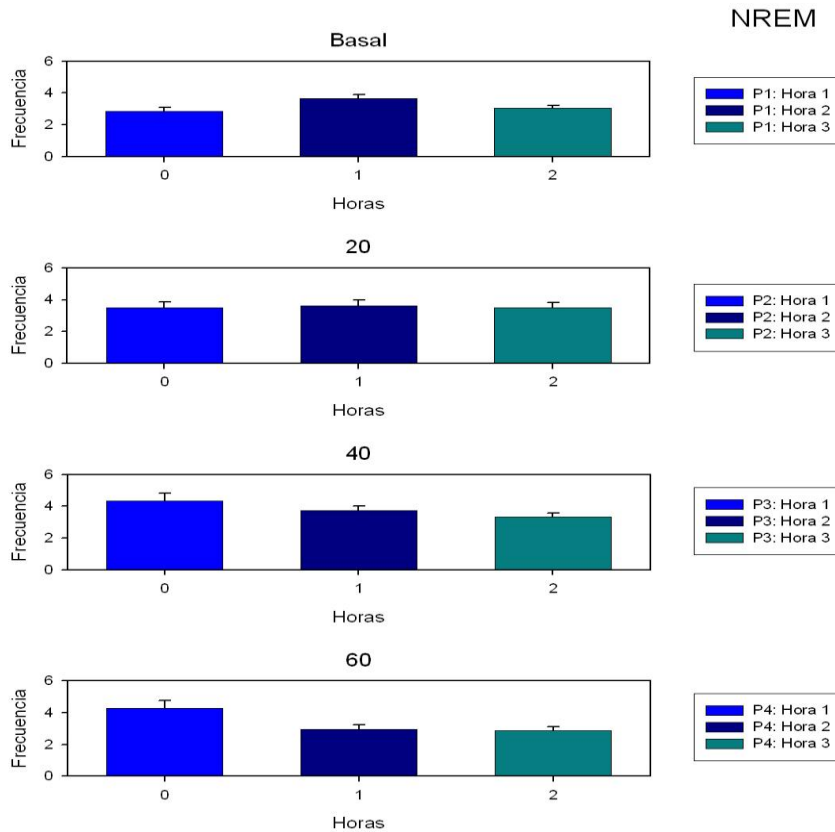


Gráfico 19. Promedio de duración de episodios de NREM durante la hora previa a la recuperación y las dos horas de recuperación para cada paradigma. (Basal = promedio de los dos días basales)

En el caso del NREM también se realizó un Andeva el cual arrojó que no existe una significancia estadística ( $p=0.1214$ ) en la diferencia entre los promedios de los 3 paradigmas de privación y el promedio basal. En este caso, al igual que para REM, se

aprecia un aumento en el promedio de duración de los eventos por sobre el promedio en las dos horas de recuperación y este se mantiene estable para ambas horas (gráfico 19).

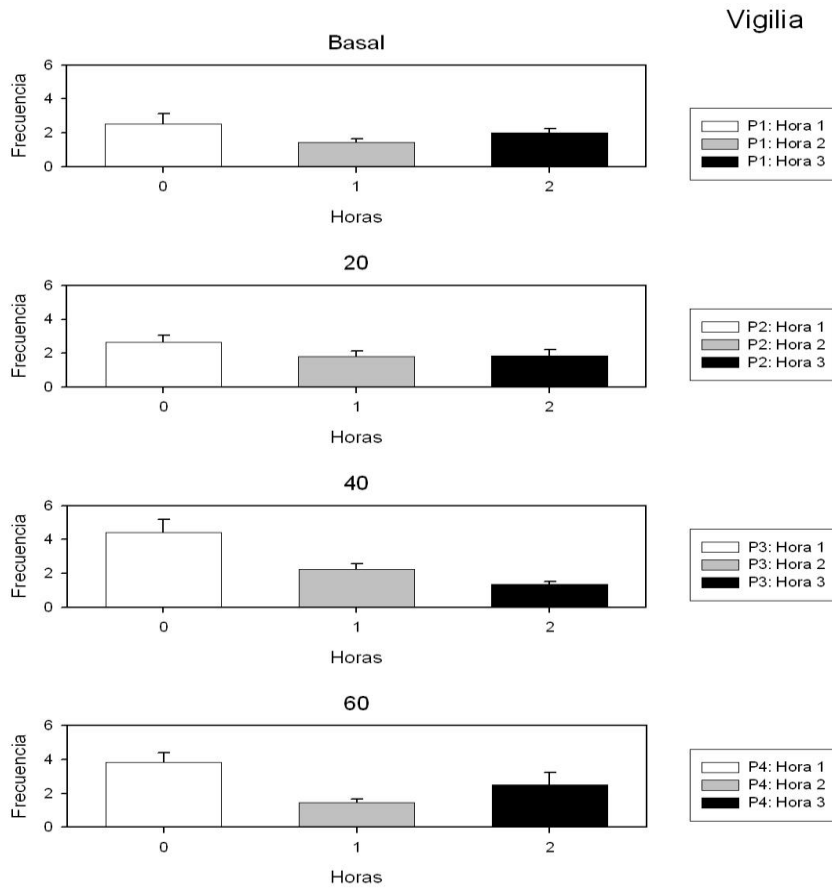


Gráfico 20. Promedio de duración de episodios de Vigilia durante la hora previa a la recuperación y las dos horas de recuperación para cada paradigma. (Basal = promedio de los dos días basales)

Para el caso de la vigilia, al realizar el Andeva, no se encuentra una significancia entre las diferencias entre los promedios de duración de los episodios basal y de los 3 paradigmas experimentales, no obstante se observa que en estos 3 casos la vigilia

disminuye en las 2 horas de recuperación en relación a la hora previa a este periodo (gráfico 20).

Por otra parte al realizar una distribución de frecuencias para los 3 estados comparando los paradigmas experimentales con el basal durante la primera hora de recuperación, se obtiene lo siguiente:

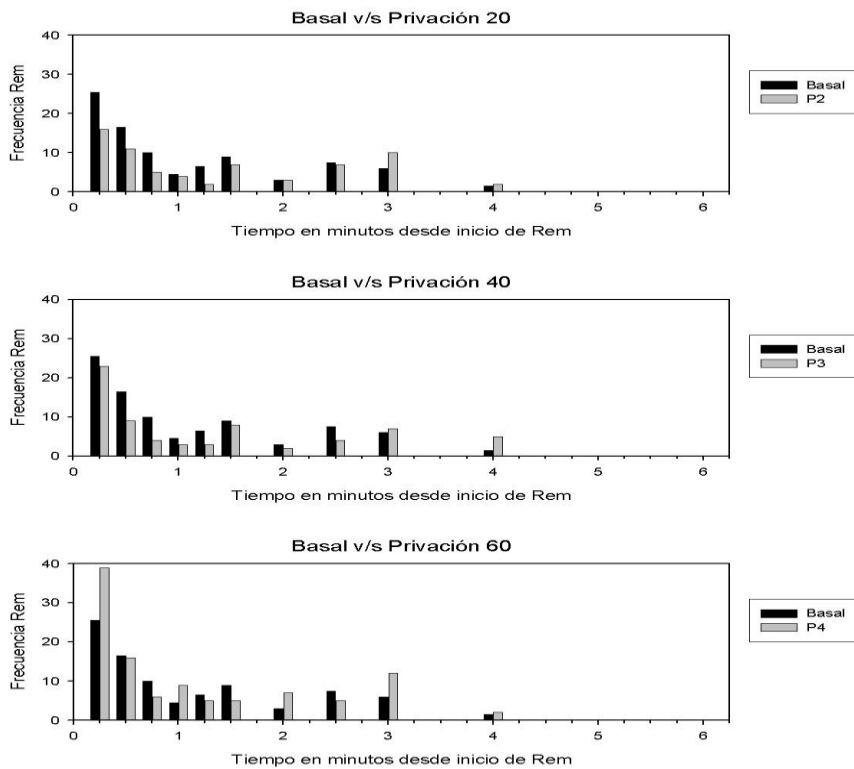


Gráfico 21. Distribución de frecuencias de la duración de episodios de REM, durante la primera hora de recuperación, entre el Paradigma basal (promedio de los dos días basales) y los restantes paradigmas.

Para este caso podemos apreciar en el gráfico 21 que los episodios de REM tienden a ser más cortos durante la primera hora de la fase de recuperación y que por lo general estos no duran más de 4 minutos. La única diferencia notoria con la frecuencia basal es

durante el paradigma de 60 minutos de privación en que hay un mayor número de episodios que duran 0.25 minutos contra los basales; lo que también se aprecia en los episodios que duran más de 3 minutos.

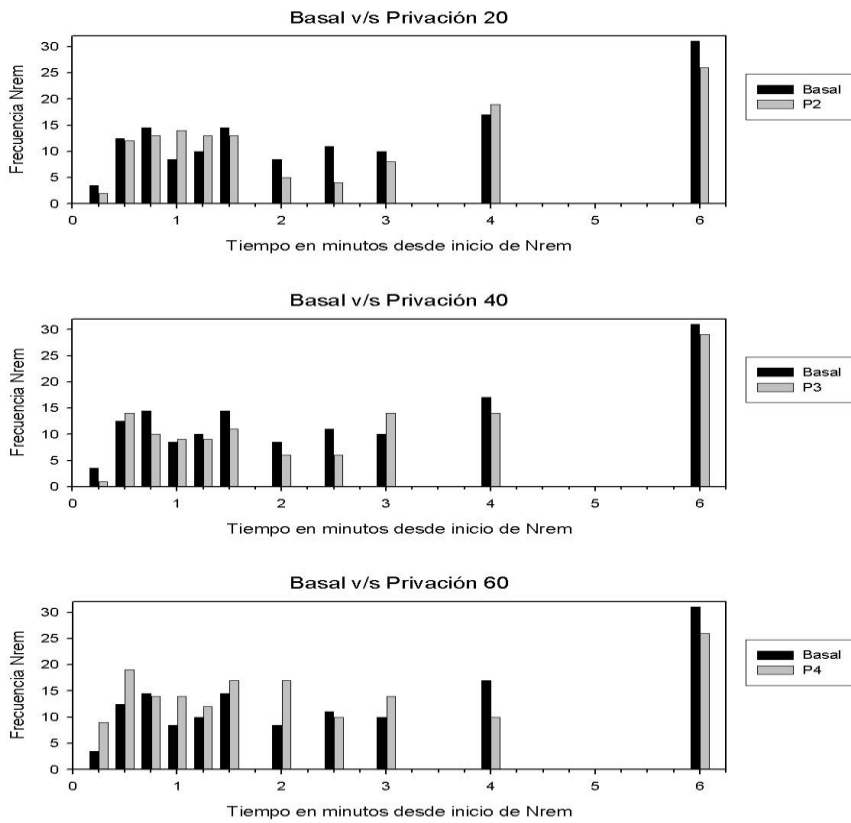


Gráfico 22. Distribución de frecuencias de la duración de episodios de NREM, durante la primera hora de recuperación, entre el Paradigma basal (promedio de los dos días basales) y los restantes paradigmas.

Para el caso del NREM, podemos ver en el gráfico 22 que existe una tendencia a que los episodios duren más que en el caso del REM, por otro lado en el paradigma de 60

minutos se puede apreciar que hay, en general un aumento en el número de episodios de determinada duración en relación a los basales.

Si ahora comparamos el paradigma basal contra el paradigma de 60 minutos y tomamos los NREM que transitan a REM antes de 45 segundos y realizamos un test de probabilidad exacta de Fisher nos da significativa la diferencia entre ambos paradigmas ( $p= 0.025$ ), ya que en un 12% los NREM que pasan a REM durante la recuperación lo hacen antes de 45 segundos en cambio en el paradigma de 60 minutos resulta ser un 19.3%. Esto lo podemos apreciar con mayor claridad en el gráfico nº 23.

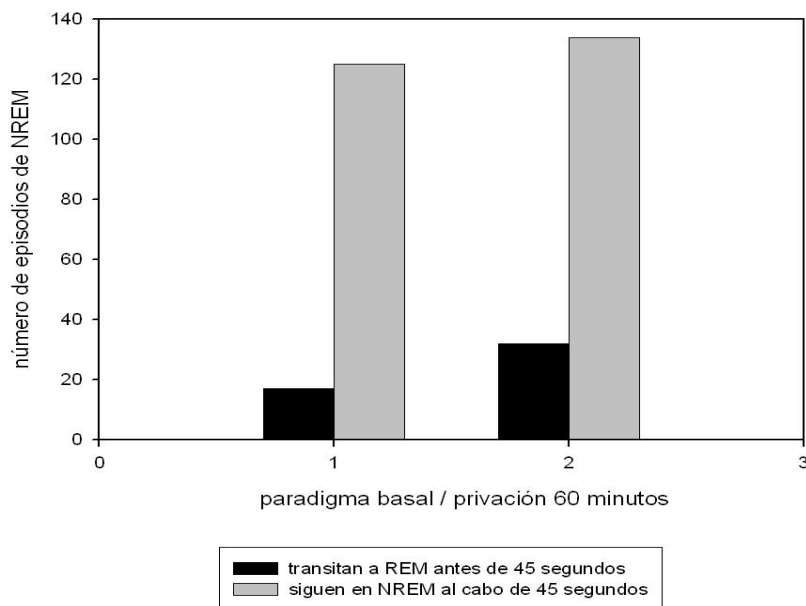


Gráfico 23. Distribución de frecuencias de episodios de NREM que transitan a REM o que continúan en NREM al cabo de 45 segundos, para el paradigma basal (promedio de los dos días basales) y el paradigma de privación de 60 minutos.

Finalmente, en cuanto a la probabilidad de que un NREM de determinada duración (en minutos), transite a REM podemos agregar lo siguiente:



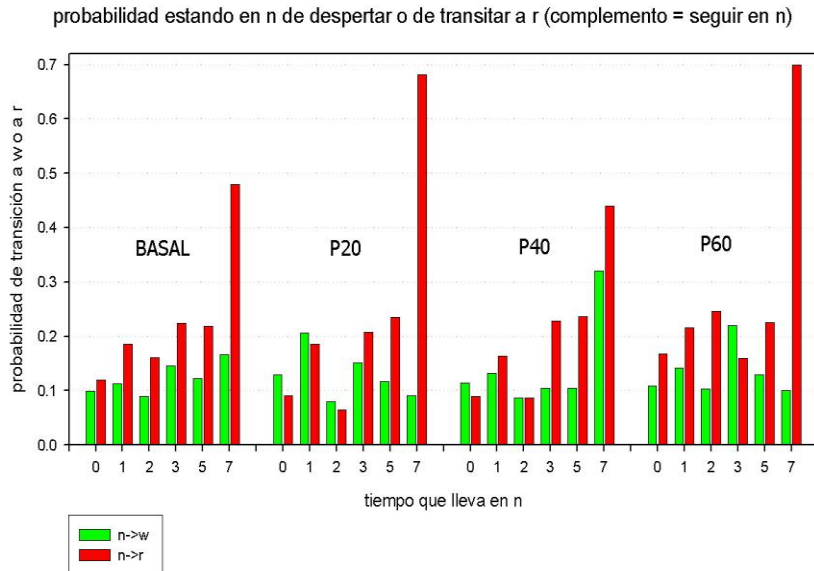


Gráfico 24. Probabilidad del NREM de transitar a Vigilia o a REM, luego de un determinado tiempo de duración (en minutos), durante la primera hora de recuperación, para el paradigma basal (promedio de los dos días basales) y los restantes 3 paradigmas de privación. n->w corresponde a NREM que transita a Vigilia y n->r corresponde a NREM que transita a REM

Si se analiza el gráfico 24 podemos ver que entre el paradigma basal y el paradigma de 60 minutos para los NREM que duran menos de un minuto y menos de tres minutos aumenta la probabilidad de que los NREM de dicha duración pasen a REM en vez de a una vigilia en relación al paradigma basal. Al realizar el  $\chi^2$  para este caso no alcanza a ser significativa la diferencia ( $\chi^2=9.1985$ ;  $P=0.163$ )

Por otra parte también se puede apreciar en el gráfico 24 que en los NREM de duración de 0 a 3 minutos tiende a haber un aumento en la probabilidad de seguir a REM

para todos los paradigmas y luego de 7 minutos de duración de un NREM definitivamente la probabilidad de seguir a REM es muy alta.

Ahora bien, si nos vamos a observar que pasa con los NREM de hasta 3 minutos podemos ver lo siguiente (gráfico 25):

Probabilidad de haber transitado a w o a r o de seguir en n tres minutos después de iniciar un episodio de n

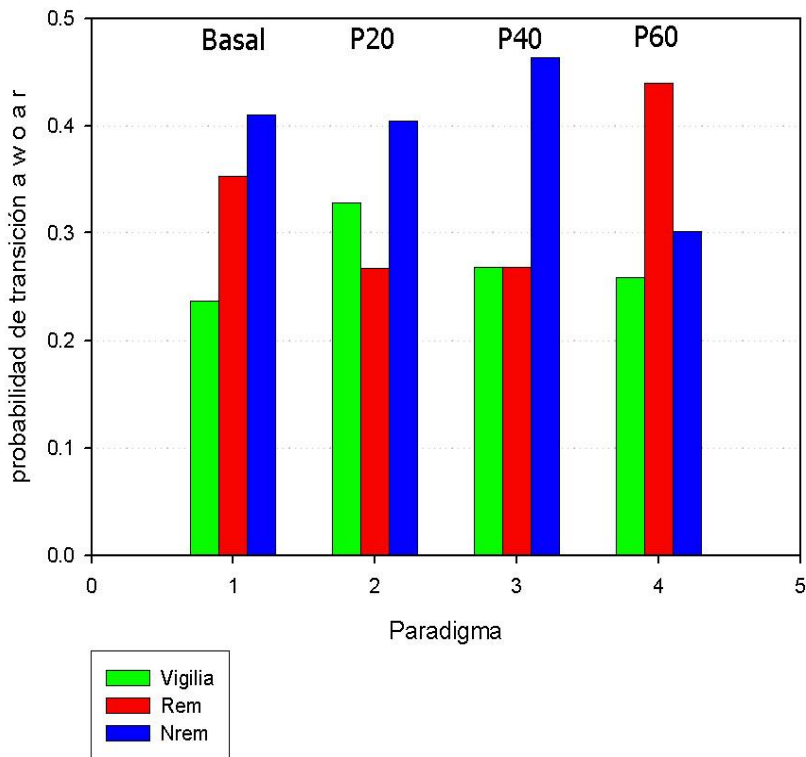


Gráfico 25. Probabilidad del NREM, luego de 3 minutos desde su inicio, de transitar a Vigilia o a REM, o de continuar en NREM, para el paradigma basal (promedio de los dos días basales) y los restantes 3 paradigmas de privación.

Al realizar el  $\chi^2$  para este caso entre el paradigma basal y el de 60 minutos existe una diferencia muy cercana a la significancia ( $\chi^2 = 5.5825$ ;  $P = 0.061$ ) en el aumento de

probabilidad de transitar a REM por parte del NREM. Luego al realizar el test de probabilidad exacta de Fisher, la diferencia resulta ser significativa ( $P=0.024$ ). Esto se aprecia claramente en el gráfico 25.

### **Homeostasis de corto plazo del sueño REM**

Otra forma de constatar posibles efectos de las privaciones sobre la regulación del sueño REM es evaluar cambios en su homeostasis de corto plazo. Este concepto se basa en que la correlación entre las variables duración de un episodio de REM versus duración del intervalo anterior no es significativa, mientras que la correlación de las variables duración de un episodio de REM versus duración del intervalo siguiente sí lo es. Esto indica que en condiciones habituales el intervalo que el animal ha pasado sin REM no regula la duración del episodio de REM siguiente, pero que la duración de un episodio de REM sí determina la duración de su intervalo siguientes, es decir, del momento en que es gatillado un nuevo episodio.

Los gráficos 26.1 a 26.4 muestran la relación entre episodios de REM e intervalos anteriores o intervalos siguientes en dos horas de los experimentos para condiciones basales y tras la privación de 60 minutos de REM.

Las regresiones de los episodios con los intervalos anteriores no son significativas. En el caso basal el  $F_{(1, 339)}$  es de 1.10 lo que da un  $p=0.2957$  para un  $n=341$  y en el caso de recuperación tras privación de 60 minutos el  $F_{(1, 187)}$  es de 0.89 lo que da un  $p= 0.3468$   $n=189$ .

Las regresiones de los episodios con los intervalos siguientes sí son significativas. En el caso basal el  $F_{(1, 316)}$  es de 55.95 lo que da un  $p=0.0000$  para un  $n=318$  y en el caso de

recuperación tras privación de 60 minutos el  $F_{(1, 183)}$  es de 35.96 lo que da un  $p= 0.0000$  para un  $n=185$ .

Es particularmente notable la comparación de las pendientes de la regresión con el intervalo siguiente en los casos basales y tras la privación de 60 minutos. En la situación basal es de 0.0493275 con un intervalo de confianza de 95% de 0.0363524-0.0623027, mientras que tras la privación es de 0.0361758 con un intervalo de confianza de 95% de 0.0242726-0.0480791. El que la pendiente tras la privación sea menor indica que la homeostasis de corto plazo está alterada en el sentido de que un episodio de REM de una determinada duración es menos efectivo en posponer el gatillamiento de un nuevo episodio de REM.

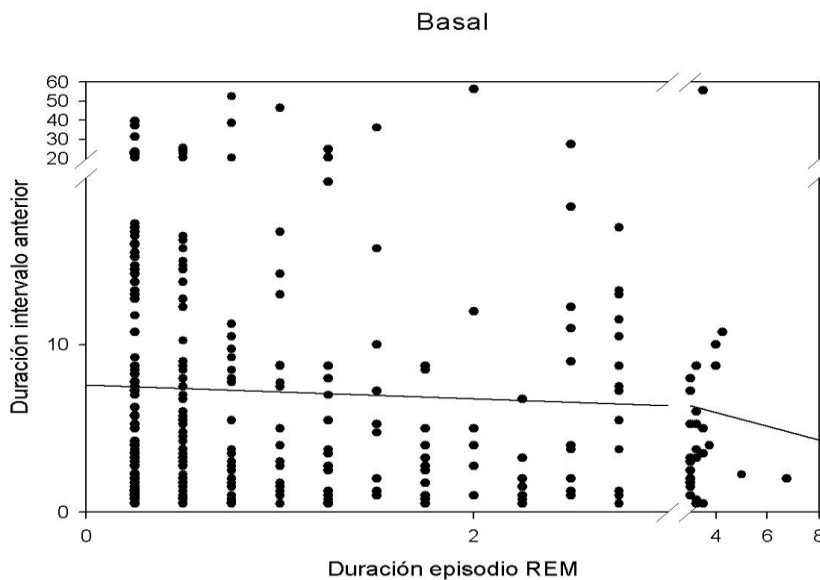


Gráfico 26.1. Regresión entre la duración de episodios de REM y el intervalo anterior a dichos episodios para el paradigma basal (promedio de los dos días basales).

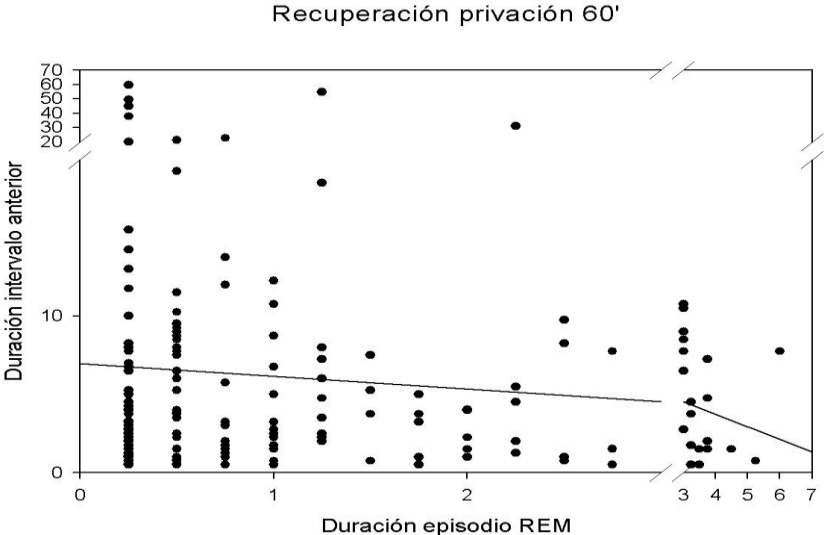


Gráfico 26.2. Regresión entre la duración de episodios de REM y el intervalo anterior a dichos episodios para el paradigma de 60 minutos de privación

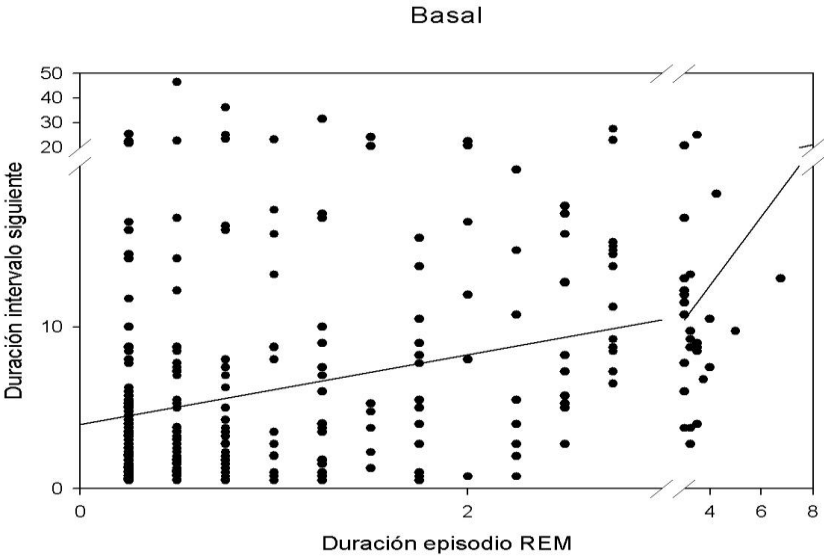


Gráfico 26.3. Regresión entre la duración de episodios de REM y el intervalo siguiente a dichos episodios para el paradigma basal (promedio de los dos días basales).

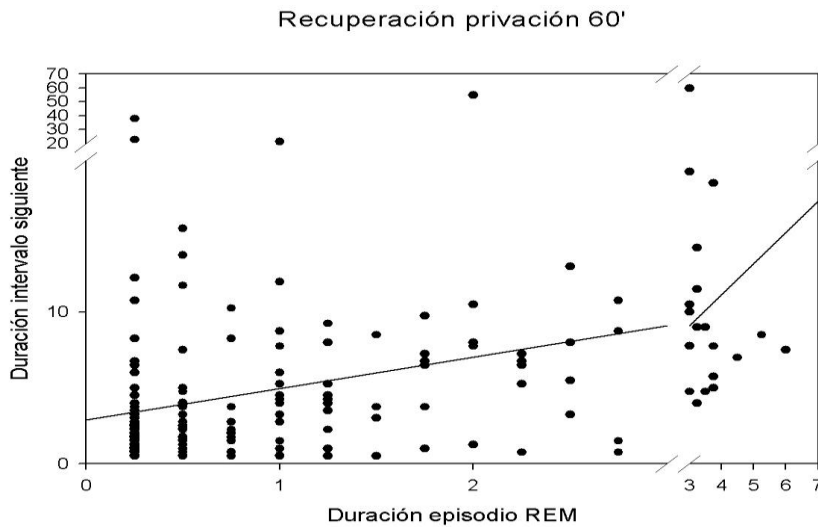


Gráfico 26.4. Regresión entre la duración de episodios de REM y el intervalo siguiente a dichos episodios para el paradigma de 60 minutos de privación.

## DISCUSIÓN

Dado la gran cantidad de variables involucradas en el estudio de sueño, se hace difícil llegar a conclusiones definitivas con respecto al mismo. Existen variadas alternativas para abordar los resultados entregados en los estudios realizados lo que hace que el análisis pueda ser visto desde distintas aristas.

En nuestro caso, empezando por las privaciones, existe una clara diferencia entre los 2 métodos utilizados para llevar a cabo la privación de sueño REM, si bien ambos poseen el mismo medio por el cual causan el efecto de sacar a la rata del REM, en otras palabras despertarla, es quien lleva a cabo la decisión de privar o no privar el que marca la diferencia, por un lado es el ser humano quien decide, en el método 1, en que

momento echa a andar el mecanismo de privación, basándose en patrones electroencefalográficos que la experiencia le ha enseñado a reconocer en el REM; y por el otro lado, en el método 2 es el computador quien decide llevar a cabo la privación, aunque con supervisión del humano, basado en parámetros que el humano le ha indicado. En este punto se hace evidente que el menor número de intervenciones en el método 2 apunta hacia una mayor efectividad por parte de dicho método, esto también debido a que al estar calibrado de determinada manera, la intensidad de la intervención es mayor que la del método 1, lo que hace que las sacudidas de la jaula sean más fuertes, o bien la intervención sea más prolongada que la realizada en el método 1. Esto también queda manifiesto en el hecho que en el primer método las intervenciones poseen un menor lapso de tiempo entre ellas, algunas se diferencian por sólo minutos, por lo tanto al llevar ambos métodos a un mismo plano temporal, es decir, establecer un límite de intervalo de tiempo entre una y otra intervención para decir que ambas pertenecen a un intento distinto por sacar a la rata del REM; el número de intervenciones tiende a equipararse entre los dos métodos. Aún así se pudo llevar a cabo comparaciones entre ratas que poseían intervenciones en determinado bloque de 20 minutos de privación y esto nos demostró que si había aumentos entre un bloque y otro que pueden ser interpretados como un aumento en el número de intentos de transición a REM durante la privación, una de las cosas que caracteriza la homeostasis del sueño REM. Lamentablemente, en la condición de tener en dos de los tres bloques de privación al menos una intervención o bien alguna intervención en los tres bloques; al haber en algunas comparaciones muy pocos casos, aun cuando la diferencia entre uno y otro bloque visualmente es muy notoria, no se alcanzó la significancia.

En cuanto a la calidad del método 2 con respecto a la privación, cabe destacar que este es perfecto, es decir, no deja espacio para que el REM se manifieste, lo que lleva a creer que el sistema automático de privación es completamente factible.

En cuanto al periodo de recuperación, si bien son puntuales los casos en que las diferencias son significativas en la cantidad de REM, ya sea por bloque de 20 minutos o por episodios de REM, claramente existe de todas formas una tendencia a que, más marcadamente durante la primera hora de privación exista un aumento en la cantidad de REM desde un bloque de 20 minutos a otro, lo que nos indica que hay expresión de recuperar el REM que se ha privado. El hecho de que en ocasiones no sea significativo es una muestra más de la diversas variables que operan dentro de los estados conductuales, tal vez sería necesario un mayor número de casos, o tal vez el mecanismo de homeostasis opera hasta cierto nivel temporal el cual sólo se alcanzó en cierto número de experimentos, en fin, una infinidad de factores podrían ser los causantes de dichos resultados.

Por otro lado, los episodios si bien no tienden a extenderse en el tiempo, aumentan en cantidad los que duran menos de un minuto, lo que bien puede significar un mayor número de episodios de REM.

Finalmente, el hecho de que los NREM de menos de 45 segundos que transitan a REM aumenten en porcentaje, nos demuestra la existencia de una mayor consolidación dentro del sueño, es decir, claramente el lapso que pasa entre un estado y otro, disminuye luego de la privación y por otra parte, hay mayor número de NREM efectivos. Por decirlo de alguna forma, que pasan a REM pudiendo haber seguido en NREM o pasado a vigilia. Esto lo confirma la prueba de  $\chi^2$  realizada para los NREM de determinada duración, en este se demostró que la probabilidad de que el NREM pase a REM, por sobre



la posibilidad de seguir en NREM o pasar a vigilia, aumenta, por lo que es claro que existe a una mayor propensión a REM durante el periodo de recuperación de las ratas privadas.

## CONCLUSIONES

- Existe un aumento del número de intervenciones de privación a lo largo de la misma que nos indica que hay un mayor número de intentos por entrar a REM durante el periodo de cada paradigma experimental.
- Existe también una clara tendencia a que durante la recuperación la cantidad de REM aumente en los sucesivos bloques de 20 minutos durante la primera hora de recuperación.
- Hay un mayor efecto tras la privación de REM de 60 minutos que tras privaciones menores.
- El curso temporal de la recuperación de REM es tal que resulta más notoria entre los 40 a 60 minutos tras su privación
- Hay un aumento de la propensión del REM durante la recuperación, lo que se hace evidente en el hecho de que un mayor número de NREM en lugar de continuar, pasan a REM antes que vigilia y por otra parte, el tiempo en que se demora un episodio de NREM en pasar a REM también está disminuido.
- La homeostasis de corto plazo está alterada tras la privación de 60 minutos en el sentido de que un episodio de REM de una determinada duración es menos efectivo en posponer el gatillamiento de un nuevo episodio de REM.

Con formato: Justificado

## BIBLIOGRAFÍA

- **Barbato, G., and Wehr, T.A.** 1998. Homeostatic regulation of REM sleep in humans during extended sleep. *Sleep*, Volumen 21. pp: 267-276.
  
- **Benington, J.H.; Woudenberg, M.C.; Heller, H.C.** 1994. REM-sleep propensity accumulates during 2-h REM-sleep deprivation in the rest period in rats. *N. Letters*. Volumen 180: pp 76-80.
  
- **Borbély, A.** 1982 A two process model of sleep regulation. *Human Neurobiol.* Volumen 1: pp 195-204.
  
- **Daan, S.; Beersma, D.G.; Borbely, A.** 1984. Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *Am J Physiol.* Volumen 246: pp 161-183.
  
- **Dijk, D.J.; Brunner, D.P.; Borbély, A.** 1990. Time course of EEG power density during long sleep in humans. *Am J Physiol.* Volumen 258: pp 650-661.
  
- **Franken, P.** 2002. Long-term vs. Short-term processes regulating REM sleep. *J. Sleep Res.* Volumen 11: pp 17-28.
  
- **Maldonado, P.; Vivaldi E.** 2001. Computadores en investigación biomédica: I. Análisis de señales bioeléctricas. *Rev. Med. Chile.* Volumen 129: 955-962.
  
- **Morales, F.R.; Boxer, P.; Chase, M.H.** 1987. Behavioral state-specific inhibitory postsynaptic potentials impinge on cat lumbar motoneurons during active sleep. *Exp Neurol*, 98. pp: 418-35.
  
- **Morrison, A.A.; Pompeiano, O.** 1965. An analysis of the supraspinal influences acting on motor neurons during sleep in the unrestrained cat: responses of the alpha motoneurons to direct electrical stimulation during sleep. *Arch ital Biol*, 103: 497-516.
  
- **Ocampo-Garcés A, Molina E, Rodríguez A, Vivaldi EA.** 2000. Homeostasis of REM sleep after total and selective sleep deprivation in the rat. *J Neurophysiol.* Volumen 84. pp: 2699-2702.

- **Ocampo-Garcés A.; Vivaldi E.A.** 2001. Short-term homeostasis of REM sleep assessed in an intermittent REM sleep deprivation protocol in the rat. *J Sleep Res.* Vol. 11. pp: 81-89
  
- **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*, Volumen 22. pp: 11-31.
  
- **Timo-iaria, C.; Negrao, N.; Schmidek, W.; Hoshino, K.; Lobato de Menezes, C.; Leme Da Rocha, T.** 1970. Phases and Status of sleep in the Rat. *Phys. And Behavior*, Volumen 5. pp: 1057-1062.
  
- **Trachsel, L.; Tobler, I.; Borbely, A.** 1986. Sleep regulation in rats: effects of sleep deprivation, light, and circadian phase. *American Physiological Society*, Volumen 20. pp: 1037-1034.
  
- **Valencia, M.; Salín, R.; Pérez, R.** 2000. Neuroanatomía y neurofisiología del sueño, **In:** *Transtornos del dormir*, Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. pp: 5-19.
  
- **Vivaldi, E.A.; Ocampo, A.; Wyneken, U.; Roncagliolo, M.; Zapata, A.M.** 1994(a). Short-Term Homeostasis of active sleep and the Architecture of Sleep in the Rat. *J. Neurophysiol.* Volumen 72. pp: 1745-1755.
  
- **Vivaldi, E.A.; Ocampo, A.; Wyneken, U.; Roncagliolo, M.; Zapata, A.M.** 1994(b). Measures of Location and Dispersion of Sleep State Distributions Within the Circular Frame of a 12:12 Light: Dark Schedule in the Rat. *Sleep*. Volumen 17. pp: 208-219.
  
- **Vivaldi, E.A.** 2002. El ciclo sueño vigilia, **In:** *Cronobiología Humana*, Editorial Universidad de Quilmes, Buenos Aires. pp: 207-219.
  
- **Werth E.; Cote K.A.; Gallmann E.; Borbély A.; Achermann P.** 2002. Selective REM sleep deprivation during daytime I. Time course of interventions and recovery sleep, **In:** *Am J. Physiol Regulatory Integrative Comp. Physiol.* pp: R521-R526.
  
- **Wurts S.W.; Edgar D.M.** 2000. Circadian and homeostatic control of rapid eye movement (REM) sleep: promotion of REM tendency by the suprachiasmatic nucleus. *J. Neuroscience.* Volumen 20. pp: 4300-4310.