



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA**

**CARACTERIZACION DEL REFLEJO CONSENSUAL
(OCULAR HETEROLATERAL) DE LA RESPUESTA
ELECTRORRETINOGRAFICA DEL SISTEMA
VISUAL DEL ACOCIL**

T E S I S

ELABORADA PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROCIENCIAS)

PRESENTADA POR

BIOL. JAIME AURELIO BARRAL CABALLERO



LOS REYES IZTACALA, ENERO DE 1992



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neurobiología de la Visión, en la E.N.E.P. Iztacala U.N.A.M., y en los laboratorios de Fisiología de Líquidos y Electrolitos de la Facultad de Medicina U.N.A.M., bajo la dirección del

Dr. Baltazar Barrera Mera.

A Mi querida Margarita,

A Santiago, Paola y Cecilia

A mis Padres

Por su apoyo siempre
incondicional, por sus
desvelos y su amor.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera dedicarle de manera especial el presente trabajo a la Dra Thalia Harmony Baillet, Coordinadora de la Maestría en Neurociencias de la E.N.E.P. Iztacala; quien con su apoyo entusiasta y decidido, tanto en el terreno académico como en el de la superación personal, ha dejado una huella indeleble en la formación académica de todos y cada uno de los estudiantes de la Maestría que muy atinadamente dirige.

También quisiera expresar mi agradecimiento al Dr. Baltazar Barrera Mera, asesor académico, por su apoyo, su entusiasmo y especial interés en el desarrollo de técnicas experimentales novedosas.

De manera muy especial dedico este trabajo al M. en C. Javier Flores López, quien impidió que de una manera o de otra destrozara el idioma español, con su crítica siempre constructiva y sus valiosos consejos.

A mis compañeros y amigos del Proyecto Neurociencias y del área de Zoología de la E.N.E.P. Iztacala, de manera especial a Jesus Espinoza, Rogelio López Torres, Pilar Villeda, Jorge Padilla, Sergio Stanford y Manuel Elias.

Quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron, con su consejo, sus opiniones, propuestas y su apoyo a la culminación de este trabajo, en especial al Dr. Hugo Aréchiga U., Dra. Beatriz Fuentes Pardo, Dr. Jesus Machado Salas, Dr. Rafael Urrutia, Dr. Arturo Picones Medina, Dra Maria Luisa Fanjul Moles, Biol. Enrique Bañuelos Sánchez, Biol. Ernesto Pardo García, M. en C. Pilar Freijo Niebla, Dra Nora Liceága, Biol. Enrique Morales, Biol. Ana Maria Campos y Biol. Jorge Méndez Martínez.

A todos mis estudiantes, que habitualmente les toca un papel obscuro en el desarrollo de la investigación, y que en realidad son el pilar del quehacer científico en todos los niveles.

Finalmente quiero expresar mi agradecimiento a los profesores que les tocó la tarea, siempre ingrata, de evaluar el presente trabajo: Dr. Hugo Aréchiga, Dra Maria Luisa Fanjul, M. en C. Jorge Padilla, Dr. Baltazar Barrera y M. en C. Blanca Perez R.

Algunos de los resultados parciales, así como algunas de las conclusiones derivadas del presente trabajo han sido presentadas en diversos foros de discusión como son:

- Barral, J.A. y Barrera-Mera, B., 1989, Caracterización del reflejo consensual del acocil. IX Coloquio de Investigación. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala U.N.A.M.
- Barral, J.A. y Barrera-Mera, B., 1990, Evidencias de fotorrecepción extrarretiniana en el tallo ocular del acocil. X Coloquio de Investigación. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala U.N.A.M.
- Barral, J.A. y Barrera-Mera, B., 1990, Efectos de la Xilocaína sobre la amplitud del electrorretinograma del acocil. X Coloquio de Investigación. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala U.N.A.M.
- Barral, J.A. y Barrera-Mera, B., 1991, El reflejo consensual del acocil *Procambarus clarkii* Girard (Crustacea, Decapoda). XI Congreso Nacional de Zoología, Mérida Yucatan. (Ref. 350)
- Barral, J.A. y Barrera-Mera, B., 1991, Evaluación de las características del reflejo consensual en el sistema visual del acocil. XXXIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Colima, Col. (C-207).
- Barral, J.A., Barrera-Calva, O.A., Barrera-Calva, E. y Barrera-Mera, B., 1991, Bilateral equalization of crayfish retinal sensitivity. XXI Annual Meeting of Neurosciences. New Orleans, U.S.A. (6945. S-49).

INDICE

Resumen	1
Introducción	2
Antecedentes	14
Hipótesis de Trabajo	18
Objetivos	19
Material y Métodos	20
Organismos	20
Electrorretinograma	20
Dispositivo de Registro	20
Manipulaciones Experimentales	22
Animal Integro	22
Indices Pigmentarios	24
Protocerebro Aislado	24
Sección Sagital del Cerebro	26
Resultados	27
Parte I Animal Integro	27
A. Características del Reflejo Consensual en el Animal Integro	27
a.1. Descripción del Reflejo Consensual	27
a.2. El Reflejo Consensual a diferentes Intensidades Luminicas	29
a.3. El Reflejo Consensual a diferentes duraciones del estímulo bilateral	31
a.4. Variaciones Circádicas del Reflejo Consensual	33
Parte II Lesiones Cerebrales	35
B. Protocerebro aislado <i>in situ</i>	35
b.1. Características de la Preparación	35
b.2. Características del reflejo consensual en animales con Protocerebro Aislado.	38
C. Sección Sagital del cerebro	41
c.1. Características de la Preparación	41
c.2. El Reflejo Consensual en animales con Sección sagital del Cerebro	42
Parte III Efectores Pigmentarios	43
d.1 Efecto del Pigmento Proximal	43
d.2 Efecto del Pigmento Distal	45
Discusión	48
Conclusiones	63
Bibliografía	65

RESUMEN

En el acocil existe una modificación refleja en la respuesta de la amplitud del electrorretinograma conocida como Reflejo Consensual, el cual, como ocurre en vertebrados, es provocado por la luz que incide en el ojo contralateral. El propósito del presente trabajo es presentar una evaluación de las características de esta respuesta refleja, en el crustáceo.

Se utilizaron acociles adultos *Procambarus clarkii* (Girard) de ambos sexos y en intermuda, adaptados a las condiciones del laboratorio. Se obtuvo el ERG utilizando las técnicas convencionales de amplificación y registro; asimismo se evaluó la migración de los pigmentos retinianos. Previo a la manipulación experimental los organismos se adaptaron a la obscuridad en periodos no menores a 60 minutos. Se aplicaron pulsos de luz blanca de 30 μ seg, y con una intensidad de 94.39 lx cada dos minutos, que evocó una respuesta que equivale al 50 % de la respuesta máxima. La luz unilateral se aplicó contralateralmente, con una lámpara de halógeno a través de un tubo capilar cubierto de aluminio, con una intensidad de 118 lx. Los experimentos se realizaron en animales íntegros, en organismos con el protocerebro aislado *in situ* y en animales con sección sagital del cerebro.

Nuestros resultados muestran que el reflejo consensual en el acocil se ocasiona por el desplazamiento de los pigmentos retinianos ya que se observa una disminución en la amplitud del ERG 12 a 25 minutos después de haber encendido la luz contralateral, lo que se explica debido al tiempo que tarda en migrar el pigmento próximal en una primera etapa y posteriormente la migración del pigmento distal. Los resultados en animales con protocerebro aislado *in situ* no presentan diferencias significativas con los animales íntegros, pero los animales a los que se les practicó la sección sagital del cerebro presentan una latencia que excede los 180 min, lo que sugiere la presencia de una vía neural que desciende al nivel del ganglio subesofágico y asciende hacia la lámina ganglionar contralateral, además de la existencia de una vía humoral.

CARACTERIZACIÓN DEL REFLEJO CONSENSUAL (OCULAR - HETEROLATERAL) DE
LA RESPUESTA ELECTORRETINOGRÁFICA DEL SISTEMA VISUAL DEL ACOCIL

Biol. Jaime Aurelio Barral Caballero.

Los Reyes Iztacala, Enero de 1992.

INTRODUCCIÓN

En los crustáceos existen diversas estructuras encargadas de responder ante los estímulos luminosos, como es el caso de los ojos compuestos, los ojos simples, el ojo nauplio, los ocelos frontales, órganos frontales, los órganos de Gicklhorn, los fotorreceptores extrarretinianos, etc (Kaestner, 1969; 1970; Shaw y Stowe, 1982; Schram, 1986). En el tallo ocular (TO) de los crustáceos (Fig. 1) es posible encontrar además de las estructuras visuales algunas otras a las que se les han asociado funciones olfativas (Horridge, 1965), mecanorreceptoras (Kaestner, 1970) y neurosecretoras (Carlisle y Knowles, 1953). La organización anatómica del TO varía mucho en los diversos grupos, sugiriendo que quizás el TO sea en realidad una continuación del protocerebro (Horridge, 1965; Strausfeld y Nässel, 1981). El TO en los crustáceos con ojos compuestos pedunculados presenta neuropilos bien definidos, pudiéndose identificar a la lámina ganglionar, seguidos de la médula externa, la médula interna, la médula terminalis, el cuerpo hemielipsoide y el nervio óptico.

En el TO la estructura más distal corresponde a los ojos compuestos. Estos se encuentran formados por un número variable de unidades visuales denominadas omátides (Fig. 2a y b). En los crustáceos es posible encontrar desde cuatro (Isópodos) hasta

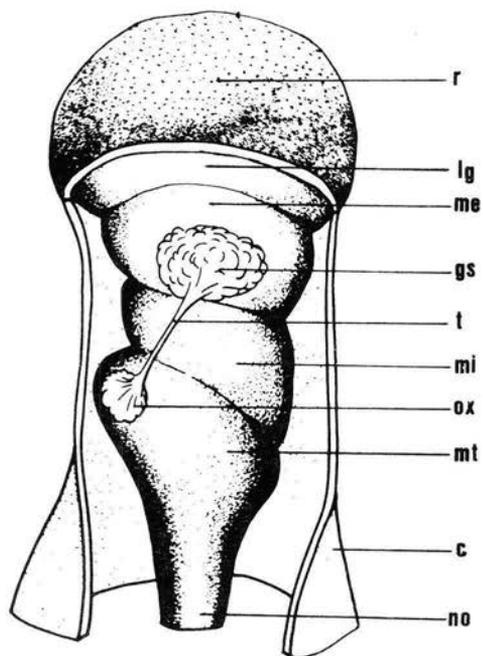


Figura 1.- Esquema en que se muestra el tallo ocular aislado como se observa en el acocil *Procambarus clarkii*. c) Cuticula; gs) Glándula Sinusal; lg) Lamina Ganglionar; me) Médula Externa; mi) Médula Interna; mt) Médula terminal; no) Nervio Optico; ox) Organo X; r) Retina; t) Tracto OX-GS. Tomado de Barral, 1986.

catorce mil (decápodos) (Kaestner, 1969; 1970). La arquitectura propia de las omátides es relativamente simple, consta de un aparato dióptrico que conduce la entrada de luz, así como un sistema de células fotosensibles, que reciben el impulso luminoso y lo transducen en señales eléctricas que son llevadas al cerebro, y bordeando al cono cristalino un sistema de células parareceptoras que modula la entrada de luz que ingresa por la retina.

El sistema dióptrico ésta formado por dos lentes, el más externo es la córnea, que es una extensión de la propia cutícula, y es secretada por las células corneógenas que se encuentran debajo de ella. La forma que presenta varía dependiendo de su función óptica. En general, la principal función de la córnea es la de dirigir el paso de la luz desde el medio ambiente externo (aire o agua) hasta el interior de la omátide (Varela, 1974; Chapman, 1982). Inmediatamente por debajo de la córnea se encuentra la segunda lente, llamada cono cristalino; en los decápodos se encuentra formado por la yuxtaposición hacia su porción central de las cuatro células del cono, cuyos organelos celulares se encuentran dispersos en la periferia de la célula, formando pequeños grupos (Shaw y Stowe, 1982). La longitud relativa de estas células es muy variable, probablemente debida a los hábitos y habitats propios de cada organismo (Kaestner, 1970). La mayoría de los autores concuerda en que la función de esta estructura es la de dirigir la luz que ingresa a la omátide por la córnea hacia las células retinulares (Fig. 3), que son las estructuras fotosensibles. Para algunos crustáceos se ha reportado la presencia de otro sistema de lentes situado entre el cono

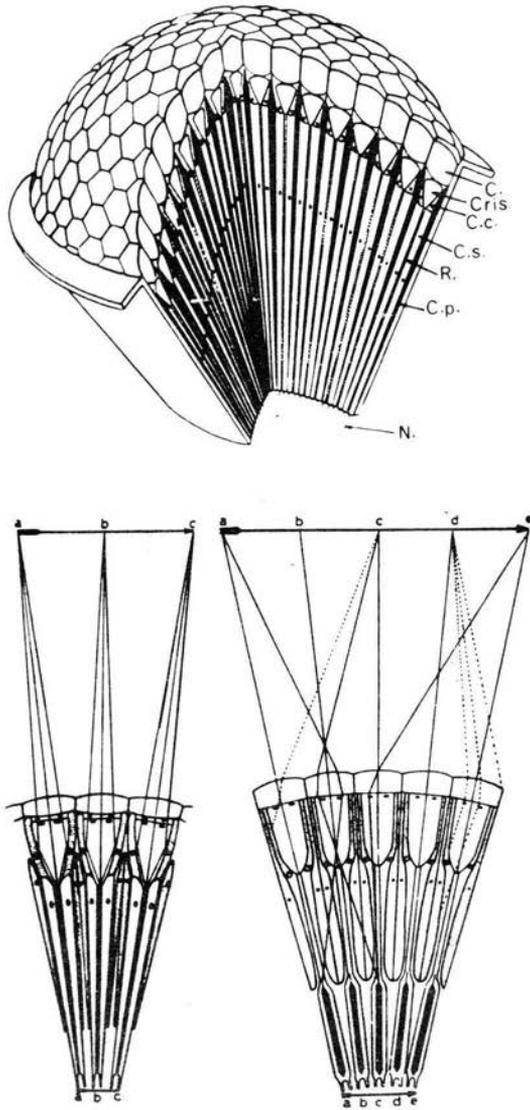


Figura 2. A) Esquema del ojo compuesto de un artrópodo que muestra la disposición de las omátides. B) Esquema que muestra la entrada de la luz en la omátide de acuerdo al tipo de visión que presenta: Por aposición (Izq) y por superposición (Der). C, Cornea; Cris, Cono cristalino; C.c., Células del Cono Cristalino; C.s., Células Retinulares; C.p., Células Pigmentarias; R, Rabdoma; N. Axones de las Células Retinulares. (Tomado de Vázquez y Villalobos, 1977)

cristalino y las células retinulares, denominado lente rabadómico; al parecer esta lente adicional ayuda a mejorar la visión de organismos adaptados a hábitos nocturnos como la langosta *Panulirus longipes*, así como aquellos organismos que habitan a grandes profundidades como el copépodo *Capilia* sp. y el eufasiácido *Thysanopoda tricuspídata* (Meyer-Rochow, 1988). En la porción central de la omátide las células retinulares presentan una serie de microvellosidades que en conjunto reciben el nombre de rabadoma (Egushi, 1966); siendo en esta región donde se lleva a cabo el fenómeno de la fototransducción (Horridge, 1965), debido a la presencia del pigmento fotolábil denominado rodopsina (Horridge, 1965; Wald, 1967; Varela, 1974; Susuki y cols., 1984). Este pigmento, indispensable para la visión crepuscular, se encuentra presente en los sistemas visuales de vertebrados e invertebrados, y reacciona dependiendo de la intensidad lumínica (Weale, 1968; Chapman, 1982; Stryer, 1986, 1987).

Los ojos compuestos de los crustáceos contienen tres series de pigmentos accesorios, variando en las diferentes especies. Algunos de estos pigmentos sufren extensas migraciones relacionadas con el nivel de iluminación. Su posición entonces modula el flujo de luz que entra a las membranas fotosensibles de los rabadomas (Rodríguez-Sosa y Aréchiga, 1982). En el acócil dos de estos pigmentos son móviles; el más periférico es el pigmento distal, compuesto por gránulos oscuros localizados en células elongadas pigmentarias que rodean al cono cristalino, desde el borde de la córnea hasta la membrana basal su función está determinada por la acción de hormonas específicas liberadas por la glándula sinusal (Kleinholz, 1976). La segunda serie de pigmentos

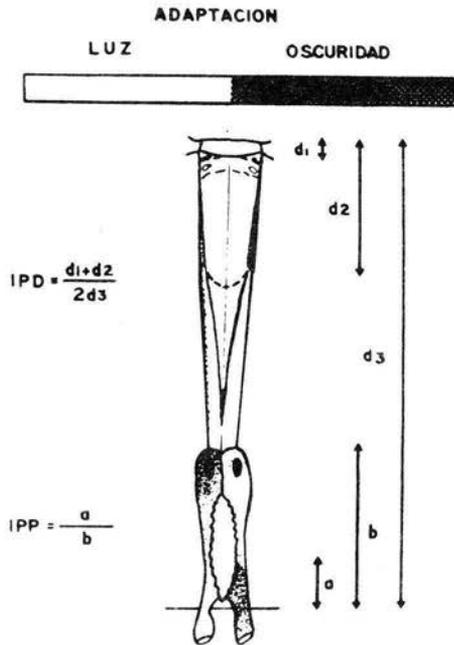


Figura 3.- Esquema en que se muestra A) Una omátide del ojo compuesto y se indican las medidas que se utilizaron para la medición de los pigmentos retinianos proximal (IPP) y distal (IPD)

corresponde al pigmento proximal, de forma similar a los anteriores, se les localiza en el interior de las células retinulares y al parecer se comporta como un efector independiente (Shaw y Stowe, 1982), siendo activado por un mecanismo serotoninérgico (Aréchiga y cols., 1990).

La tercera serie de pigmentos corresponde a los llamados pigmentos de reflexión, formados principalmente por pteridinas y cristales de guanina, encontrándose típicamente en la porción basal de las células retinulares; en el acocil este pigmento tiene una posición constante a diferentes niveles de iluminación (Rodríguez-Sosa y Aréchiga, 1982).

En oscuridad, los gránulos del pigmento distal se encuentran retraídos hacia la porción más distal de la omátide, mientras que los gránulos del pigmento proximal se localizan hacia el lado opuesto, en la base de la célula retinular; dando como resultado que la zona que corresponde al cristalino y gran parte de las células retinulares permita pasar los rayos luminosos en cualquier dirección, así la luz tangencial que entra por las omátides vecinas puede estimular al rabdoma de la célula retinular (Fig. 2b). En condiciones de iluminación los pigmentos tienden a dispersarse, ocupando la mayor parte de la omátide, impidiendo de esta manera, que la luz tangencial que entra por las omátides vecinas estimule al rabdoma (Rodríguez-Sosa y Aréchiga, 1982).

Los experimentos realizados sobre la modulación de la intensidad lumínica en el acocil *Procambarus bowyeri* y *P. clarkii* muestran que el margen total de sensibilidad durante la adaptación a la oscuridad abarca tres unidades logarítmicas (curvas $V/\log I$) (Glantz, 1968; Aréchiga y cols., 1974). Esto se debe, al menos en

parte, a las migraciones de los pigmentos retinianos (Rodríguez-Sosa y Aréchiga, 1982). Los desplazamientos fotomecánicos de los pigmentos están regulados por sistemas diferentes. El pigmento distal responde directamente a señales neurohormonales (Cooke y Sullivan, 1982; Shaw y Stowe, 1982). La hormona estimulante de la adaptación a la luz del pigmento retiniano distal (HPDL) (Fernlund, 1971; 1976), y al parecer la hormona concentradora de eritróforos tegumentarios (HCE) también ejerce su influencia sobre la migración del pigmento distal (Aréchiga y cols., en prensa). Se ha reportado, sin embargo, para el acocil *P. bousieri*, que el movimiento del pigmento proximal pudiera ser un fenómeno pasivo (Frixione y cols., 1979). La estimulación luminosa, está asociada con un incremento en la concentración intracelular de Ca^{2+} en el fotorreceptor, esto se ha relacionado con los desplazamientos del pigmento proximal (Olivo y Larsen, 1978). Asimismo, existe una marcada diferencia en el curso temporal de los movimientos de los pigmentos debidas a iluminación, así en *P. bousieri* se ha observado que durante la adaptación a la luz, el pigmento proximal se desplaza primero (Olivo y Larsen, 1978) y más rápidamente que el distal (0.38 $\mu\text{m}/\text{seg}$) (Frixione y cols., 1979); en tanto que el pigmento distal a pesar de iniciar su migración al mismo tiempo que el PP, se hace evidente 30 minutos después de que se ha iniciado la adaptación a la obscuridad, cuando alcanza un 85 % de la adaptación (Rodríguez-Sosa y Aréchiga, 1982). Resultados similares se han reportado para *Praunus flexuosus*, *Pandalus montaquii* y *Leander serratus* (De Bruin y Crisp, 1957). Por otro lado la intensidad necesaria para inducir las migraciones de los pigmentos retinianos

es diferente para cada uno de ellos ya que el pigmento distal requiere de intensidades luminicas mayores que el pigmento proximal. Asimismo se ha reportado que la exposición a luz brillante ($> 4000 \text{ lx}$, 5 seg) en animales previamente adaptados a la obscuridad es suficiente para iniciar la migración del pigmento proximal. Además el efecto de la intensidad lumínica sobre el ojo afecta la extensión de la migración pero el valor de la misma que permanece relativamente constante (Olivo y Larsen, 1978). Asimismo se ha propuesto, que la migración del PP pudiera estar controlada por vías neurales ascendentes, para ello se han realizado experimentos en los que se ha utilizado la luz polarizada (Ludolph y cols., 1973). Muy recientemente se han mostrado vías ascendentes por el tallo ocular que establecen uniones con neuronas de la lámina ganglionar (Aréchiga y cols, 1990).

Los datos mostrados por los diferentes autores indican que la función que realizan cada uno de los pigmentos retinianos es, al parecer muy específica; así, el pigmento de reflexión únicamente refleja la luz que recibe, permitiendo que las células retinulares sean estimuladas otra vez cuando la luz es reflejada, haciendo las veces de un fotomultiplicador. El pigmento proximal responde rápidamente a los cambios de intensidad lumínica, en tanto que el pigmento distal actúa más lentamente, realizando ajustes progresivamente, a lo largo de varias horas, mismos que requiere el animal para mantener la entrada adecuada de luz de manera uniforme y eficiente durante las fases diurna y nocturna del ritmo nictameral.

En relación a la señales bioeléctricas registradas, la respuesta masiva de las células fotorreceptoras a la luz es el

electrorretinograma (ERG); en el acocil los registros muestran dos componentes (Naka y Kuwamura, 1959), el primero de ellos (HI) un transiente rápido seguido por una meseta de menor amplitud, lenta, que depende de la intensidad del estímulo; para ello las células fotorreceptoras responden a la luz con depolarizaciones lentas y graduadas, denominadas potencial de receptor; el curso temporal y dependencia con la intensidad de esta respuesta han sido descritos originándose en la propia célula fotorreceptora (Giantz, 1968).

El origen del potencial de receptor en los fotorreceptores del crustáceo no ha sido completamente explicada (Fain y Lisman, 1981), se propuesto que esta respuesta se genera por un incremento transitorio de las conductancias iónicas de la membrana del fotorreceptor, como ya ha sido descrito para otros invertebrados (Jarvilehto, 1979; Fain y Lisman, 1981). Por otro lado, se ha descrito una variación de la fotosensibilidad a lo largo del ciclo nictameral, siendo mayor durante la noche que durante el día (Aréchiga, 1977; Aréchiga y Huberman, 1980; Bryceson, 1986), sin que hasta la fecha se haya descrito algún mecanismo que explique ésta variación circádica.

Es probable que la modulación de la admitancia lumínica ejercida por la migración de los pigmentos accesorios intervenga en la variación circádica de la sensibilidad retiniana, sin embargo, en animales que carecen de pigmentos retinianos accesorios se ha propuesto que el mismo fotorreceptor sea capaz de generar ritmicidad circádica (Aréchiga y Rodríguez-Sosa, 1982).

En los crustáceos las observaciones sobre los ritmos circádicos se han realizado tanto en animales intactos, o con

experimentos de ablación o implantación de estructuras; asimismo se han realizado experimentos *in vitro* e *in vivo*, donde se han practicado lesiones más o menos severas de diversas estructuras a las que se les han atribuido algún tipo de ritmicidad circádica. A pesar de que los resultados presentados por un sinnúmero de investigadores es aún muy incompleto, se considera que la ritmicidad circádica es un fenómeno controlado por el sistema nervioso central. Se han propuesto varios modelos, que intentan explicar la ritmicidad circádica de sensibilidad retinal, de ellos, los que más se ajustan a los resultados experimentales con que se cuenta hasta el momento se basan en un sistema osciladores circádicos múltiples que actúan a manera de células marcapaso, acoplado con sincronizadores de la actividad. Al parecer el acople de la actividad de estos osciladores y sincronizadores es a través del sistema neurosecretor del animal.

Entre las características de la ritmicidad circadiana en los crustáceos, se observa que a) Persisten en condiciones de iluminación constante, ya sea luz continua u oscuridad continua; comportándose de acuerdo a la ley de Aschoff. b) El principal agente sincronizante es la luz, sin embargo, en ausencia de ésta se ha observado que otros agentes sincronizantes son la salinidad, la presión hidrostática, el ruido, el alimento, etc. c) El ritmo circádico es capaz de compensar cambios en la temperatura, donde el Q_{10} toma valores cercanos a 1.0. d) Durante la aplicación experimental de fotoperiodos de luz oscuridad (L-O) con 12 horas de duración cada uno, se observa que los animales nocturnos inician su fase de actividad al iniciar el periodo de oscuridad, mientras que aquellos organismos de hábitos diurnos lo inician al

iniciar el periodo luminoso. Este comportamiento se mantiene aún en fotoperiodos de 16 horas (8 - 8 L-0) o en periodos de 28 horas (14 - 14); fuera de estos límites los ritmos se hacen independientes o dejan de manifestarse (Aréchiga y cols., 1992 comunicacion personal).

ANTECEDENTES

Los mecanismos de adaptación a la luz aparentemente envuelven diferentes eventos a varios niveles en el sistema visual de los invertebrados de la misma manera que ocurre en los vertebrados. Estudios recientes sobre la adaptación a la luz en insectos, moluscos y crustáceos indican que además de los efectos de la luz sobre los pigmentos fotolábiles de las células receptoras, los cambios en la sensibilidad pueden deberse a otros fenómenos. En esos animales, las interacciones sinápticas (Dowling y Chappell, 1972; Dunkan y Croghan, 1973; Glantz, 1971; Koopowitz y Stowe, 1974; Naka y Kishida, 1966) y, desde luego, la posición de los pigmentos accesorios (Aréchiga y Fuentes, 1970; Bernhard y cols., 1963; Bernhard y Ottoson, 1964) juegan un papel importante en el desarrollo del proceso de la adaptación luz - oscuridad.

El comportamiento de las dos series de pigmentos es muy diferente, ya que la migración del PP es mucho más rápida que la del PD, el desplazamiento del PP inicia al someter al organismo a condiciones de oscuridad, con una velocidad de $0.38 \mu/\text{seg}$ (Frixione y cols., 1979), cubriendo la totalidad del rabdoma en aproximadamente 30 min. La migración del PD tiene una duración mayor, llegando a alcanzar el 100 % de su migración en aproximadamente 90 minutos. La intensidad de luz necesaria para inducir la migración del PP es de casi una unidad logarítmica por arriba del umbral determinado para la excitación de las células fotorreceptoras (Olivo y Larsen, 1978). Los límites dinámicos de la curva que relaciona la dispersión del PP con la intensidad luminica cubre casi dos unidades logarítmicas, de manera similar al rango de la función $V\text{-log } I$ de la amplitud del potencial del

receptor retinular (Giantz, 1968). La función intensidad de la dispersión del PD es muy diferente, ya que requiere intensidades equivalentes a dos unidades logarítmicas mayores a las necesarias para iniciar la migración del PP, ésto es, a valores cercanos al punto de saturación de la respuesta del PP.

En el acocil existen múltiples evidencias acerca de que la respuesta de los pigmentos accesorios tanto a la luz como a la obscuridad modulan la sensibilidad retinal (Horridge, 1965; Shaw y Stowe, 1982; Rodríguez-Sosa y Aréchiga, 1982). La activación inicial de los fotorreceptores retinianos es al parecer el primer paso en la respuesta migratoria de los pigmentos accesorios (Aréchiga y cols., 1991, Comunicación Personal). Así, estableciendo la comparación con vertebrados, el comportamiento de los pigmentos accesorios es equivalente al reflejo pupilar fotomotor de los vertebrados donde se observa un cambio proporcional a la cantidad de luz aplicada al ojo. El componente heterolateral de este fenómeno corresponde al reflejo consensual (Barrera-Mera y Berdeja, 1979), que en el caso de los vertebrados es de carácter enteramente neural (Carpenter, 1976; Carpenter, 1980; López-Antunez, 1978). En los invertebrados este fenómeno ha sido poco estudiado, por lo que aún se está lejos de tener una comprensión cabal del mismo. Las únicas evidencias se han reportado en decápodos, al parecer involucran la acción de ambos pigmentos accesorios, por lo que a diferencia de los vertebrados, además de una vía neural, se está involucrando a otra de carácter humoral (Barrera-Mera y Berdeja, 1979; Barrera-Mera, y Abasta, 1978; Barrera-Mera y Cols., 1980), sin que hasta la fecha se conozca plenamente cual es el papel de cada uno de los efectores

pigmentarios en la génesis de esta respuesta refleja.

Se han presentado evidencias acerca de vías neurales mutuas, que conectan a ambos TO's entre si, tal es el caso de las neuronas de disparo sostenido que se han localizado en el acocil *Podophtalmus* sp. y en *Procambarus* sp. (Cooke y Sullivan, 1982). Se ha propuesto que vías específicas conectan a la glándula sinusal de cada ojo permitiendo una sincronización en la descarga de sus neuronas (Chiang y Steel, 1983), asimismo se han establecido conexiones de la retina contralateral con células del complejo Organo X - Glándula Sinusal, para inducir la liberación de la HPDL que promueve la migración del PD en condiciones de adaptación a la luz, sin embargo, el PP se ha considerado clásicamente como un efector independiente que responde a la cantidad de luz que incide sobre la célula retinular que la contiene, sin embargo, trabajos muy recientes han mostrado que la migración del PP puede ser modulada por neurotransmisores como la serotonina (Frixione y Hernandez, 1989; Aréchiga y cols., 1990); asimismo, otros autores han mostrado que el inicio de la migración del PP se debe a exposiciones a la luz, aunque éstas sean muy breves, por lo que requieren de intensidades de luz elevadas (Olivo y Larsen, 1978), de tal modo, que la migración de este pigmento se debe, al parecer, a una respuesta intrínseca de la célula fotorreceptora. sin que involucre necesariamente la existencia de una vía humoral.

Los estudios que se han realizado en relación al reflejo consensual, se han centrado principalmente en la interacción de ambos tallos oculares en la sincronización del ritmo circadiano de amplitud del electrorretinograma (Barrera y Berdeja, 1979), por lo que experimentos que involucren la estimulación unilateral de la

retina puede, en un momento dado, provocar cambios en la ritmicidad circadiana (Barrera-Mera y Block, 1990). Así se ha establecido que después de aplicar estímulos unilaterales de baja intensidad (menores a 3 lx), una disminución en el ojo contralateral del 5 al 50 % de la amplitud del ERG después de 15 a 25 min de iniciada la estimulación; una vez que cesa el estímulo unilateral, se recupera la amplitud del ERG de 10 a 20 min después (Barrera-Mera y Abasta, 1978; Barrera-Mera y Berdeja, 1979).

Debido a estas latencias largas de respuesta, se ha propuesto que el reflejo consensual es la respuesta resultante de la activación de una vía neural desde el ojo ipsilateral hasta el sistema OX-GS del ojo contralateral, discutiendo que dichas latencias se deben al tiempo que tarda en liberarse la HPDL desde el sistema OX-GS, así como el tiempo que tarda en difundirse hasta las células del PD (Barrera-Mera y Berdeja, 1979). Sin embargo, las intensidades reportadas (1 a 30 lx) se encuentran muy por debajo de las intensidades mínimas para evocar la migración del PD (100 lx aprox.) (Aréchiga y cols., en Prensa). Estas intensidades reportadas se encuentran dentro del rango dinámico del PP, asimismo se ha reportado que el PP tiene un tiempo de adaptación de aproximadamente 10 a 30 min (Olivo y Chrismer, 1979). Por otra parte se ha reportado que el reflejo consensual se pierde durante la fase de mayor actividad del ritmo circadiano, el cual coincide con la máxima adaptación a la obscuridad del ritmo circadiano del PP. Estos datos muestran que es necesario hacer una re-evaluación de las características del reflejo consensual, así como el papel de cada uno de los pigmentos en la génesis de esta respuesta refleja.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Con base en los antecedentes, parece claro; 1) Que existe una potente interacción entre ambos tallos oculares de los ojos compuestos de estos crustáceos, para modular la entrada de luz a los fotorreceptores. 2) Que este sistema complejo se encuentra acoplado a través de vías que cruzan por el protocerebro, y hacen posible en algunos de sus núcleos contralaterales una efectiva sincronización de su ritmicidad circadiana bilateral (Page y Larimer, 1975b; Larimer y Smith, 1980). Por otro lado, también es probable que las neuronas que intervengan en este proceso sean las neuronas heterolaterales descritas por Wiersma y Yamagushi (1965), sin embargo existen serias dudas acerca de la regulación de los efectores pigmentarios que modulan la entrada de luz a los fotorreceptores, por lo que nuestra hipótesis de trabajo consiste en demostrar que el reflejo consensual se origina por la acción de la luz sobre el ojo ipsilateral, el cual genera, a través de vías neurales una respuesta consensual sobre los efectores pigmentarios del ojo contralateral. Los datos existentes involucran intensidades luminosas muy bajas, por lo que aquí se sugiere que el reflejo optomotor pudiera expresar en parte la migración del pigmento proximal; aunque en experimentos que hemos realizado en el laboratorio hemos observado que el reflejo consensual se manifiesta aún a intensidades mayores, por lo que no se puede descartar el papel que pueda tener la migración del pigmento distal.

OBJETIVOS

Los trabajos que se han presentado en relación a la interacción de ambos TO's, así como su papel en la sincronización del ritmo circadiano, constituyen un valioso modelo para incrementar nuestros conocimientos de los mecanismos de acoplamiento funcional del sistema visual en estos crustáceos. Por otro lado, la entrada de estímulos luminosos es regulada, al parecer, por ambos TO's por lo que los estudios acerca de las características del reflejo consensual pueden aportar mucha información sobre el funcionamiento de este sistema bilateral.

Por lo que el propósito principal del presente trabajo consiste en caracterizar los cambios de amplitud en el electrorretinograma provocados por la iluminación contralateral, que ya describimos como reflejo consensual. así como el papel que tiene cada uno de los pigmentos accesorios en la regulación de este fenómeno.

Con este trabajo se habrá de contribuir al conocimiento sobre la interacción de ambos tallos oculares en la sincronización de las respuestas de los fotorreceptores a estímulos luminosos. así como el papel de los pigmentos accesorios en este proceso.

MATERIAL Y METODOS:

Organismos

Para la realización de este proyecto se utilizaron cerca de 250 acociles, tanto *Procambarus clarkii* Girard, colectados en los estados de Chihuahua y Nuevo Leon, como *Procambarus bausieri* Ortmann, colectados en el estado de Michoacan. Los experimentos se realizaron en organismos adultos, sin distinción de sexo y en etapa C o D del ciclo de intermuda. Los animales se mantuvieron en condiciones de laboratorio, con ciclos naturales de luz y oscuridad, temperatura ambiente y alimentación *ad libitum* que consistió principalmente en zanahorias y otras verduras, así como hígados de pollo, durante un mínimo de siete días previos a la manipulación experimental.

Electrorretinograma

La respuesta masiva de las células fotorreceptoras a los estímulos luminosos es el electroretinograma (ERG). Para este proyecto se obtuvo el ERG de animales intactos, utilizando electrodos de metal fabricados a partir de alfileres entomológicos del 00, afilados por electrólisis en HCl y aislados con esmalte de uñas, con un diámetro en la punta de 5 a 10 μ .

Dispositivo de Registro

El ERG se registra utilizando los sistemas de amplificación y registro convencionales (Amplificador AC Grass P511, amplificador DC Grass 7P1F, polígrafo Grass 7d); obteniéndose registros unilaterales y bilaterales.

Previo a la manipulación experimental los organismos

permanecen en obscuridad durante 120 minutos. Los estímulos luminosos de luz blanca se aplican cada dos minutos por medio de un fotoestimulador (Grass PS22), con una intensidad máxima de 220 lx y una duración de aproximadamente 30 μ seg a 5 seg para cada estímulo. Esta intensidad de estimulación genera las respuestas que se consideran como máximas (100 %) cuando el organismo se encuentra completamente adaptado a la obscuridad. Para lograr la aparición del reflejo consensual se aplican estímulos bilaterales con una intensidad máxima de 94.39 lx cada dos minutos, que evocan respuestas equivalentes al 50 % de la respuesta máxima; así como otros estímulos de intensidad menor, que se atenúan utilizando filtros de densidad neutra (Wratten, Serie 96 Kodak). La luz unilateral se aplica contralateralmente al electrodo de registro, de manera continua, con una lámpara de halógeno a través de un tubo capilar cubierto de aluminio, con intensidad máxima de 118.0 lx, atenuada también con filtros de densidad neutra.

Todos los experimentos se realizaron bajo las mismas condiciones de iluminación, salvo aquellos en los que interesaba conocer los cambios que sufre el reflejo consensual a diferentes intensidades lumínicas; como se puede ver en la sección a2 del capítulo de resultados; para ello se partió de las intensidades más bajas (< 10 lx) a las más altas (220 lx).

Área de la Pseudopupila

Para la medición del área de la pseudopupila se aplicó iluminación directa sobre cada ojo casi directamente desde el ojo del observador, lo cual permite distinguir en la porción central facetas (corneas) claras, de color anaranjado brillante, y corneas oscuras, el número de estas depende del alcance de la migración

del pigmento retiniano distal, para determinar el area de la pseudopulila se procede a contar el número de facetas rapidamente, para no afectar el nivel de la migración. Para ello se utilizo un microscopio Olympus de pedestal, para cirugía oftálmica, con fuente de iluminación propia.

Manipulaciones Experimentales

Animal Integro

Previo a los experimentos los animales se fijan con una pinza que sujeta un pequeño trozo de corcho, adherido a la región cardiaca del caparazón del animal con pegamento acrílico. El organismo queda entonces parcialmente sumergido en agua dentro de una caja de acrílico negro de 30 x 25 x 20 cm; este dispositivo permite mantener a los animales en obscuridad durante varios días sin perturbar su respiración ni sus movimientos. Asimismo, los ojos del organismo se fijan al borde ocular del caparazón con pegamento acrílico, y se cubren con hilo negro de algodón en la cuticula, con el fin de evitar la contaminación luminosa en el ojo contralateral. Posteriormente se colocan los electrodos, y se aplican los criterios de estimulación descritos anteriormente (Fig 4a).

La finalidad de esta serie de experimentos es el encontrar el rango óptimo de estimulación para evocar el reflejo consensual; asimismo, el de analizar por medio de diferentes intensidades luminicas, cuales estructuras están involucradas en la génesis de este reflejo.

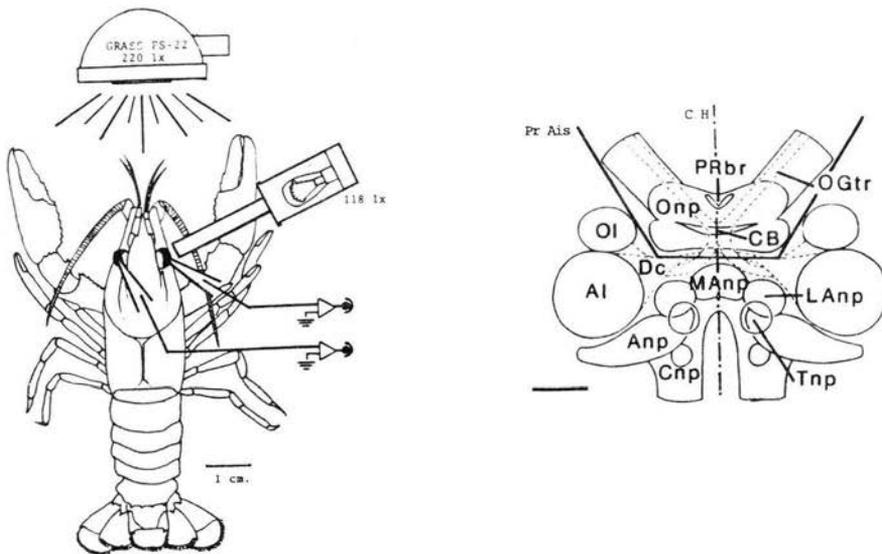


Figura 4. A) Esquema de un acocil *Procambarus clarkii* en la que se muestra el dispositivo de registro aplicando electrodos de registro en ambos ojos, fuente luminosa Grass PS-22 para ambos ojos y una segunda fuente luminosa de 118 lx unicamente estimulando el ojo izquierdo. (Modificado de McLaughlin, 1980) B) Esquema del cerebro del acocil en donde se muestran las manipulaciones quirúrgicas (Pr Ais) Protocerebro aislado *in situ*, (CH) cerebro hendido. PRbr) Punte protocerebral, Onp) Neuropilo óptico, OGtr) Tracto globular-olfatorio, CB) Cuerpo central, Ol) Lóbulo olfatorio, Dc) Comisura deutocerebral, Manp) Neuropilo antenualr medio, Lanp) Neuropilo Antenular lateral, Al) Lóbulo accesorio, Anp) Neuropilo antenal, Cnp) Neuropilo conectivo y Tnp) Neuropilo tegumentario. (Modificado de Sandeman y cols., 1988)

Indices Pigmentarios

Para caracterizar los índices de los pigmentos accesorios se utiliza la técnica de Parker ⁽¹⁸⁹⁷⁾, modificada por De-Bruin y Crisp ⁽¹⁹⁵⁷⁾, la cual consiste en fijar la posición de los pigmentos de manera instantánea al colocar a los animales en agua caliente a 80 °C durante 30 seg. Posteriormente después de colocar cada TO en formol 10 % durante 24 hrs, finalmente se les desprende tanto la parte pigmentaria como las áreas nerviosas del pedunculo ocular, y se realizan cortes con ayuda de un microtomo de congelación de 80 a 100 μ de espesor y se toman las diferentes medidas con ayuda de una reglilla micrométrica (Fig 3). El índice del pigmento distal (IPD) se obtiene por la medición del espesor corneal (d₁) más el ancho que ocupa el PD en ese momento (d₂), dividido por el doble de la distancia de la longitud total de la omatide, desde la porción basal de la cornea hasta la membrana basal (d₃). El índice del pigmento proximal (IPP) se calcula tomando la longitud de la célula retinular (a) dividido entre la longitud del desplazamiento del pigmento proximal (b) (Rodríguez-Sosa y Aréchiga, 1982):

$$\text{IPD} = \frac{d_1 + d_2}{2d_3} \qquad \text{IPP} = \frac{a}{b}$$

Con esta serie de experimentos se analizarán cuáles son los pigmentos involucrados en la respuesta del reflejo consensual, por otro lado nos proporcionará información acerca de la regulación heterolateral de estos efectores pigmentarios.

Protocerebro Aislado

Para esta preparación se utilizaron 50 organismos, sin embargo, al aplicar los criterios de selección señalados en la sección B del capítulo de resultados, el número de preparaciones

que se lograron fue de cinco. En estos organismos se ha logrado una desaferentación de la mayor parte de las vías que llegan al protocerebro, sin embargo, algunas de las vías se pierden, como es el caso de las neuronas de campo constante de Wiersma (Wiersma y Yamaguchi, 1965); conservando la integridad de la vía visual; esta preparación de protocerebro aislado *in situ* permite manipulaciones a largo plazo sin la influencia de otras vías sensoriales. Esta técnica desarrollada por Barrera-Mera y Abasta (1978), consiste brevemente en desprender una pequeña lámina circular de cutícula en la base del rostrum, separar la musculatura longitudinal dorsal y la cámara cardíaca, hasta dejar al descubierto al ganglio cerebroide, posteriormente se separa con una navaja muy fina al protocerebro del resto del cerebro; se sabe de antemano que los axones seccionados no degeneran y que son capaces de seguir realizando, al menos en parte, sus funciones (Krasne y Hee-Lee, 1977) (Fig 4b); finalmente se vuelve a colocar la cutícula sobre el caparazón y se mantiene al animal en observación durante algunos días, con el fin de evidenciar que la lesión no afecta a los tractos ópticos. Posteriormente se colocan los electrodos, y se aplica el criterio de estimulación óptimo de los datos obtenidos en las preparaciones de animal íntegro.

El propósito de esta manipulación experimental consiste en analizar las características del reflejo consensual después de eliminar otras influencias foto, quimio o mecanorreceptoras, particularmente aquellas que provienen de la cadena ganglionar ventral; restringiendo el estudio únicamente a los sistemas neuronales que integran la vía visual. De este modo, es posible obtener datos precisos acerca de las diferentes estructuras del

cerebro que influyen sobre la vía visual.

Sección Sagital del Cerebro

Al igual que la técnica anterior, se práctica una pequeña ventana en el caparazón del organismo, cerca de la base del rostrum, hasta dejar al descubierto al ganglio cerebroide. Este ganglio se separa en dos hemiganglios al realizar un corte sagital con ayuda de una navaja fina (30 - 40 μ de espesor). Para esta sección se utilizaron los mismos criterios de selección que en el la sección anterior y se lograron 3 preparaciones (Fig 4b).

La finalidad de estos experimentos es explorar las posibles conexiones que se establecen entre los TO's, así como las influencias que puedan recibir del cerebro del animal.

RESULTADOS

PARTE I ANIMAL INTEGRO

A) Características del Reflejo Consensual en el Animal Integro.

a.1.- Descripción del Reflejo Consensual

Como es bien conocido los pulsos de luz aplicados al ojo de registro evocan la aparición del ERG, que es la respuesta masiva de las células fotorreceptoras. Como ya ha sido reportado, conforme aumenta la adaptación a la obscuridad, se observa un aumento paulatino de la amplitud del ERG, llegando a los 60 minutos de adaptación a la obscuridad a un 90 % de la amplitud de la respuesta máxima. La amplitud máxima se observa aproximadamente a los 80 min. de adaptación a la obscuridad, por lo que la mayor parte de las manipulaciones experimentales se iniciaron en este tiempo de adaptación.

Después de lograr la adaptación a la obscuridad se aplicó el estímulo luminoso ipsilateral además del pulso de registro del ERG, en estas condiciones se observó que no existe una modificación aparente del ERG durante los primeros diez minutos, sin embargo, se observa un decremento gradual en la amplitud del ERG, del ojo contralateral de 10 a 15 minutos después de haber iniciado la estimulación contralateral. Como se observa en la figura 5. Posteriormente al interrumpir el estímulo luminoso del ojo ipsilateral 60 min después, observamos que de 10 a 20 minutos después de que cesa el estímulo luminoso unilateral, la amplitud del ERG tiende nuevamente a incrementarse hasta llegar a obtener

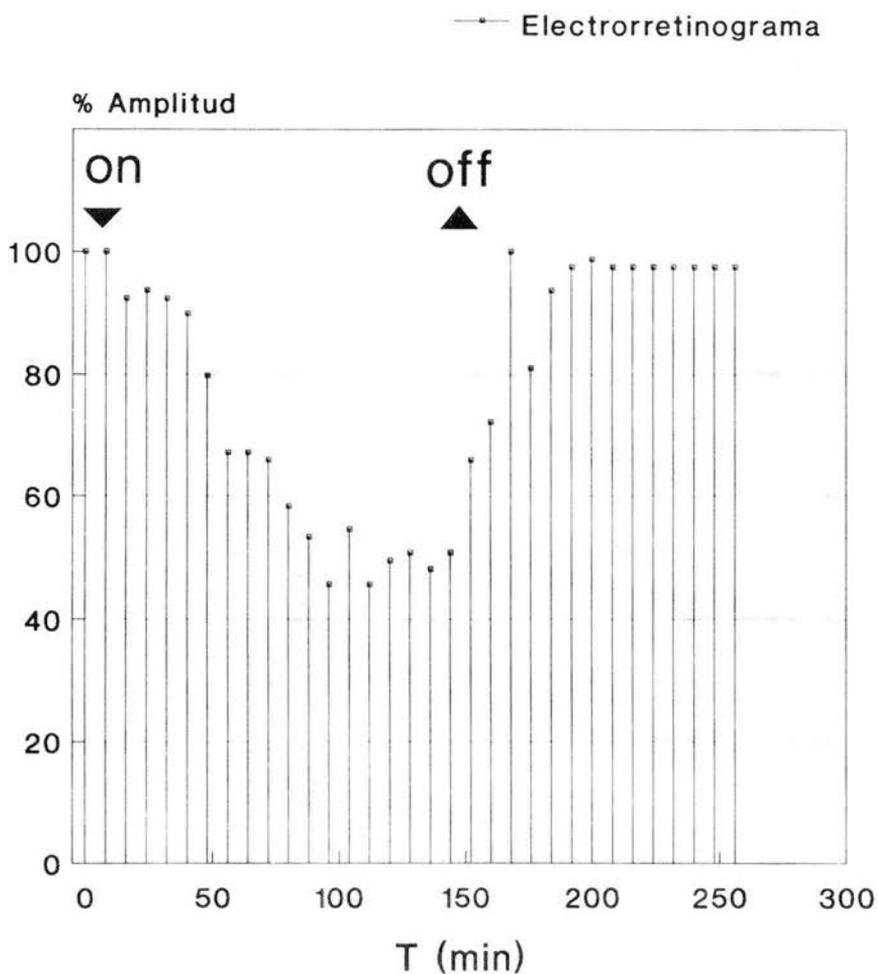


Figura 5.- Gráfica en la que se observa el curso temporal del reflejo consensual desde el inicio de la estimulación contralateral (ON) hasta la finalización del estímulo (OFF), los pulsos se mandaron cada 8 min. (n = 20)

una respuesta similar a la inicial. El tiempo que transcurre desde que se inicia la estimulación hasta que se obtiene el reflejo consensual, así como el tiempo que transcurre desde que se termina la estimulación hasta la recuperación de la respuesta inicial, sugiere que se trata de una respuesta de carácter neurohumoral más que de una respuesta debida unicamente a una inervación directa entre los fotorreceptores.

Para descartar la posibilidad de que la respuesta que se está estudiando pudiera deberse a algún tipo de artefacto se realizaron experimentos en los que deliberadamente se permitió la contaminación luminosa en el ojo de registro (ipsilateral) además de estimular continuamente al ojo contralateral; nuestros resultados mostraron que esta manipulación provoca un decremento prácticamente instantaneo del ERG (< 1 min), aún a pesar de que se trate de estímulos de muy baja intensidad (Fig. 6). Actividad de este tipo, que actúa de manera rápida, nos sugiere que la respuesta observada es exclusivamente debida a los fotorreceptores, sin que intervengan para ello los pigmentos retinianos.

a.2.- El Reflejo Consensual a Diferentes Intensidades Lumínicas

Dentro de la caracterización del reflejo consensual se hizo necesario determinar el rango de intensidades lumínicas con las que se provoca este fenómeno. Se estudiaron diversas intensidades, desde aquellas que no inducen el desplazamiento de los pigmentos retinianos, hasta aquellas en las que se logró la migración de ambos pigmentos. A intensidades menores a los 10 lx los pigmentos retinianos no se desplazan (Aréchiga y cols., 1991, Comunicación Personal), nuestros resultados muestran que no se genera el

△ Luz Contralateral □ Luz Ipsilateral

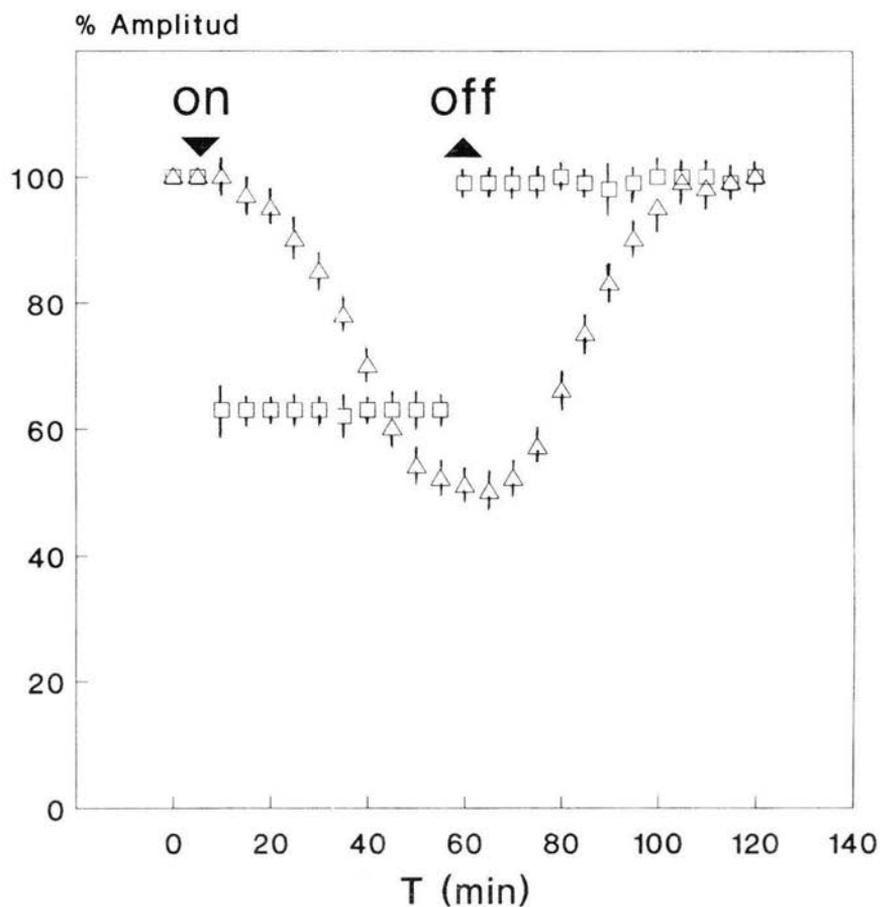


Figura 6.- En la gráfica se muestra la comparación del ERG registrado en el ojo ipsilateral y en el ojo contralateral simultáneamente. en el primero de ellos la respuesta es exclusivamente de los fotorreceptores, en el segundo caso, al parecer involucra la migración de los pigmentos accesorios, observándose claramente la consensualidad. se señala el inicio (ON) y la terminación (OFF) de la estimulación contralateral. (n = 5, para cada caso).

reflejo consensual, como se aprecia en la figura 7.

En la misma figura se pueden observar además los cambios que se generan en el ERG provocados al estimular con intensidades mayores, es decir, dentro del rango de intensidad de la migración del PP y del PD (de 10 a 30 lx y pulsos mayores a 100 lx respectivamente). Como se aprecia en la figura al aumentar la intensidad del estímulo, de igual modo se incrementa la intensidad con la que se expresa el reflejo consensual, deprimiendo la amplitud del ERG hasta valores cercanos al 50 %.

Estos resultados sugieren que la aparición del reflejo consensual es dependiente de la migración de los pigmentos retinianos, o bien que los efectores de este fenómeno promueven la migración de los pigmentos retinianos, con el fin de compensar la diferente entrada de luz que se registra en cada ojo, y de este modo poder realizar la sincronización bilateral de la función visual en ambos tallos oculares.

a3.- El Reflejo Consensual a diferentes duraciones de estímulo bilateral.

Como es sabido el ERG del acocil presenta dos componentes, el primero es el componente HI que es un transiente rápido de gran amplitud, y que corresponde al inicio del estímulo; el componente HII permanece mientras dura el estímulo, siendo de menor amplitud (Naka y Kumavara, 1959). Una de las preguntas que nos planteamos durante el desarrollo de la presente investigación consistió en determinar si el reflejo consensual se generaba debido a alguno de los componentes del ERG, o bien a ambos. Para ello se plantearon experimentos en los que se obtuvo el reflejo consensual de

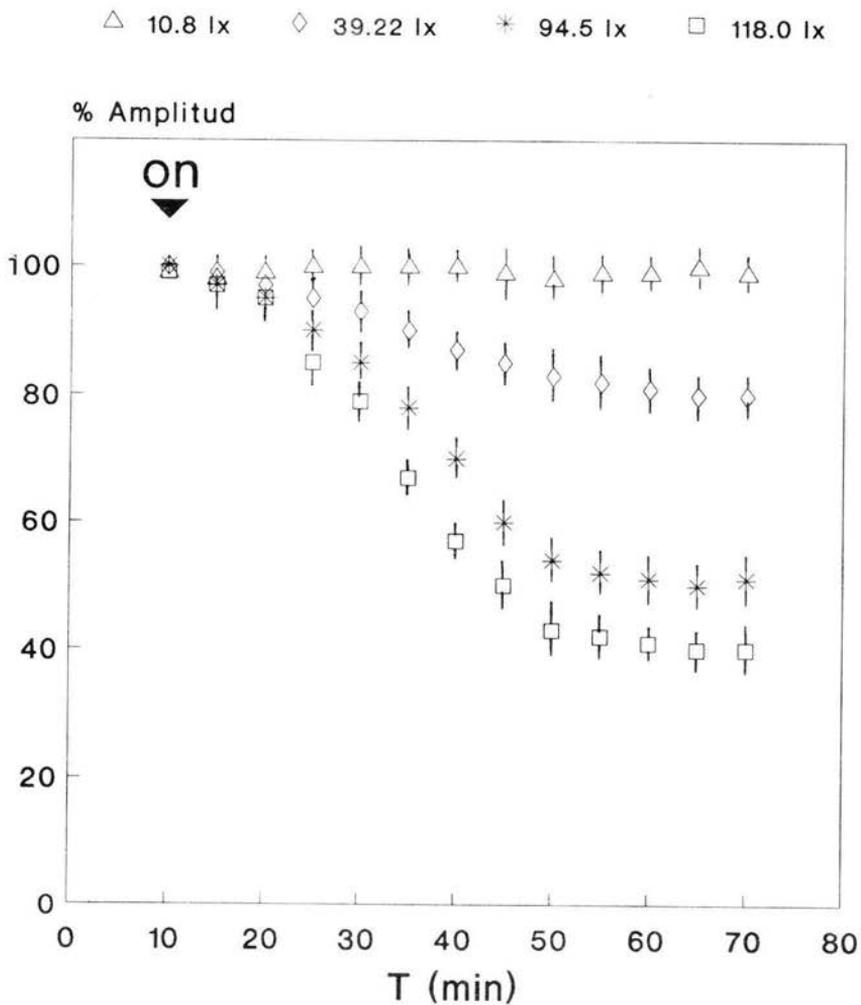


Figura 7.- En la gráfica se observan los cambios en la amplitud del ERG al evocar el reflejo consensual a diferentes intensidades luminicas. se señala el inicio de la estimulación contralateral (ON). (n = 5 para cada curva)

organismos en los que se mostraran los dos componentes del ERG y se evaluara el papel de cada uno de ellos en la génesis de este fenómeno.

Para ello se realizaron experimentos en los que a diferentes intensidades se modificó la duración del estímulo de registro bilateral. El resultado de estos experimentos se puede observar en la figura 8 en los que, se aplican (A) Pulsos de luz con una duración de 30 μ seg, para los que fue necesario utilizar intensidades de 220 lx para evocar la aparición del reflejo consensual, y como se puede apreciar en la gráfica únicamente provoca un decremento en la amplitud del ERG menor al 10 %. A Duraciones mayores (B y C) las intensidades mínimas para evocar la aparición del reflejo consensual son de menos de 40 lx y provocan decrementos en la amplitud del ERG hasta de un 60 %, lo que sugiere un proceso de tipo acumulativo.

Como se puede observar en las gráficas, los pulsos de luz de corta duración solo evocan la aparición del componente HI del ERG, y como se puede apreciar es necesario aplicar una intensidad de luz elevada para generar el reflejo consensual. Estos datos sugieren que quizás el componente principal en la génesis del reflejo consensual sea HII.

a4.- Variaciones Circádicas del Reflejo Consensual

Los resultados previos sugieren que la aparición del reflejo consensual es dependiente de la migración de los pigmentos retinianos, a su vez se ha demostrado la presencia de oscilaciones circádicas en la migración de dichos pigmentos (Aréchiga y cols, 1985), por lo que se evaluó el reflejo consensual a diferentes horas del día, cabe aclarar que el objetivo de esta serie de

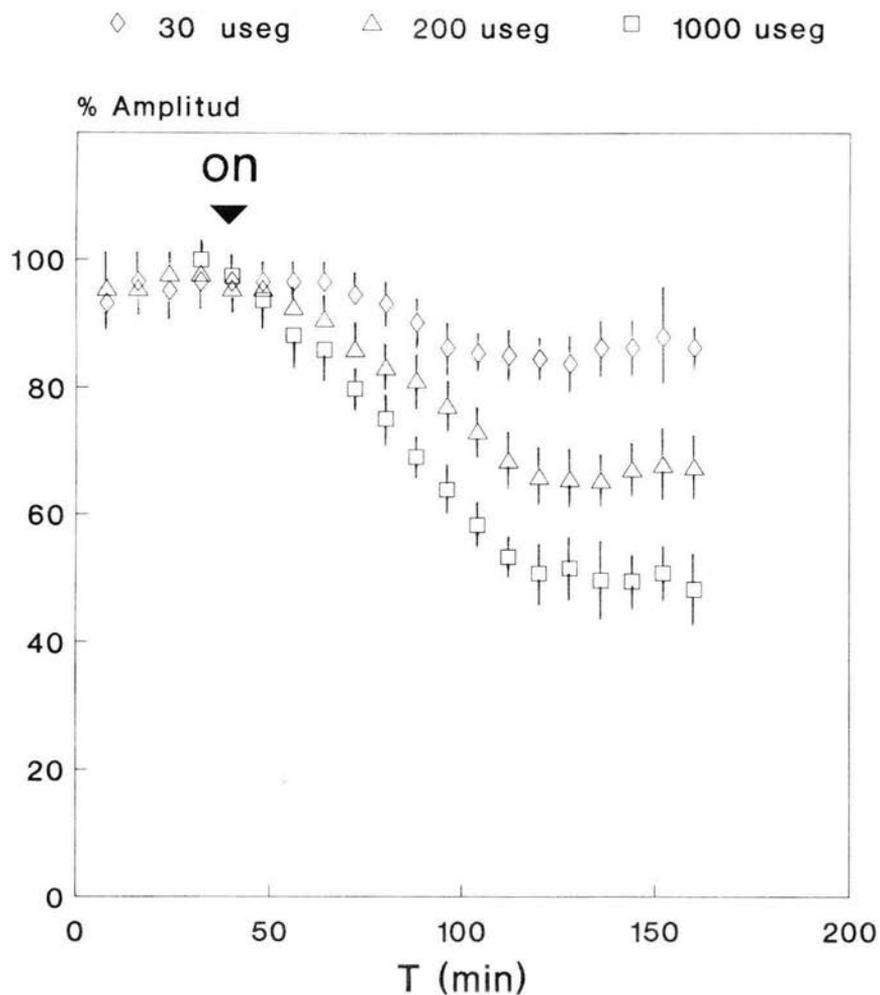


Figura 8.- Gráfica en la que se muestra la aparición del reflejo consensual a diferentes duraciones del estímulo luminoso, para los pulsos de 30 μ seg se utilizaron intensidades de 118 lx, para las duraciones mayores se utilizaron intensidades de 40 lx. Se señala el inicio de la estimulación contralateral (ON). (n = 5 para cada curva)

experimentos no era caracterizar el ritmo circadiano del reflejo consensual, sino determinar si presenta o no oscilaciones de tipo circadiano, por lo que no se tomaron registros de todas las horas del ciclo nictameral.

Los resultados obtenidos muestran que la depresión de la amplitud del ERG es mayor durante las horas del día que durante la noche, como se puede observar en la figura 9, lo que quiere decir que la aparición del reflejo consensual se presenta con mayor intensidad en la fase de reposo del ritmo circadiano.

Por otro lado se observó que la recuperación de la amplitud del ERG fue mucho más rápida durante la noche que durante el día, lo cual parece confirmar el papel de los pigmentos retinianos accesorios, que durante la noche se encuentran adaptados a la obscuridad. En consecuencia la generación de la reducida respuesta refleja, asimismo la rápida recuperación puede relacionarse también con una reducida concentración de los niveles de hormonas, como es el caso de la HPDL liberados de manera periódica a la hemolinfa durante el ciclo circádico.

PARTE II LESIONES CEREBRALES

B) Protocerebro Aislado *in situ*

b.1) características de la preparación

Previo a los registros electrorretinográficos, se tomaron diversos criterios para evaluar las lesiones que se estaban practicando en el cerebro del acocil. Como principalmente nos interesaba saber si el reflejo consensual se encuentra restringido únicamente a la región del protocerebro, o bien, si intervienen otras regiones del sistema nervioso central. Los criterios que

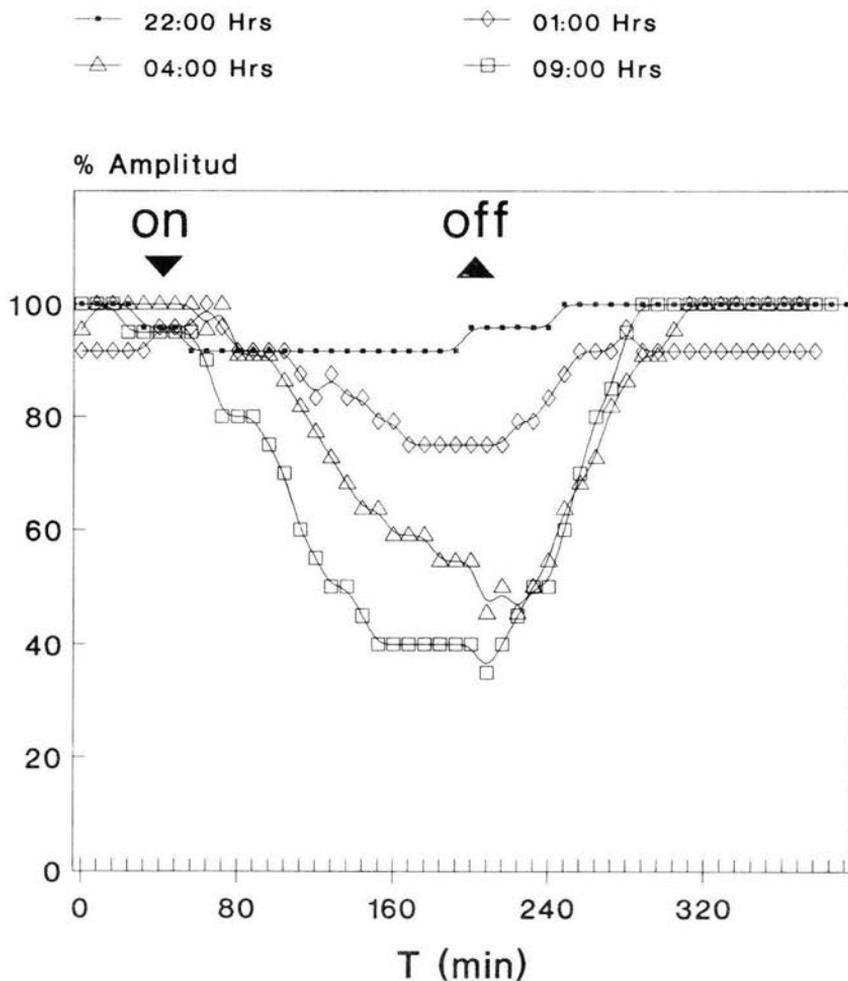


Figura 9.- Gráfica en la que se muestra el curso temporal del reflejo consensual del acocil a diferentes horas del día, mostrando los cambios circádicos de esta respuesta refleja. Se señalan los tiempos de iniciación (ON) y de terminación (OFF) del estímulo unilateral. (n = 5 para cada curva; 9:00 hrs, n = 10)

utilizamos se restringieron a evaluar la integridad de la vía visual en los animales operados.

Así un primer criterio fue el de observar el área que ocupa la pseudopupila antes y después de la operación, ya que se ha demostrado que este parámetro es útil para evaluar la migración de los pigmentos retinianos bajo diferentes condiciones (Aréchiga y cols., 1974); en nuestros experimentos sólo se utilizaron aquellos animales que después de la intervención quirúrgica presentaban claramente al área de la pseudopupila semejante en ambos ojos.

Un segundo criterio fue el observar la aparición de una potente respuesta fotomotora en ambos ojos, respuesta que se asocia directamente con el estado de adaptación a la luz o a la obscuridad de los pigmentos retinianos accesorios a lo largo de los conos cristalinos. Esta respuesta fotomotora estaba intacta sólo en aquellos casos en los que la vascularización oftálmica se encontraba intacta después de la intervención quirúrgica. Los organismos que presentaron lesiones en dicha vascularización fueron eliminados.

Finalmente un tercer criterio fue el observar electrorretinográficamente la oscilación circádica del ritmo de amplitud del ERG, sólo se utilizaron animales que presentaban un robusto ritmo del ERG en ambos ojos.

En estas condiciones se obtiene una preparación en la cual el animal es incapaz de responder a estímulos potencialmente perturbantes, de origen táctil, olfativo o gustativo. asimismo, estímulos provenientes de otras partes del organismo, como puede ser la influencia de fotorreceptores extrarretinianos sobre la función visual, ya no provocan cambios en las respuestas de la vía

visual. Por otro lado se ha reportado que los axones seccionados de crustáceo pueden seguir funcionales durante un tiempo relativamente largo, puesto que no degeneran (Krasne y Hee-Lee, 1977). Esta preparación resulto ideal para los estudios que guardan los propósitos del presente trabajo.

Entre los aspectos de interés de esta preparación se puede observar que después de la lesión pierde intensidad el reflejo de protección optomotor, este reflejo se manifiesta con la tendencia, por parte de ambos ojos, al estimular mecánicamente la superficie del tallo ocular a ocultarse debajo del rostrum (Fig. 10a), mientras que en la mayoría de las preparaciones de protocerebro aislado *in situ*, los pedunculos oculares resultaron incapaces de responder energicamente estimulación mecánica.

La viabilidad de la preparación es muy elevada, ya que animales operados presentan un claro ritmo circádico de amplitud del ERG después de tres meses de haber practicado la lesión; asimismo las características del reflejo consensual se conservan y presentan claramente.

b.2) Características del reflejo consensual en animales con Protocerebro Aislado.

En general se observó que el ERG de animales con protocerebro aislado *in situ* es muy claro, quizás más claro que como se observa en el animal integro, esto es probablemente debido a la desaferentación que sufre el protocerebro ya que no recibe las influencias de otras vías.

En lo que respecta al reflejo consensual, en la figura 11 se

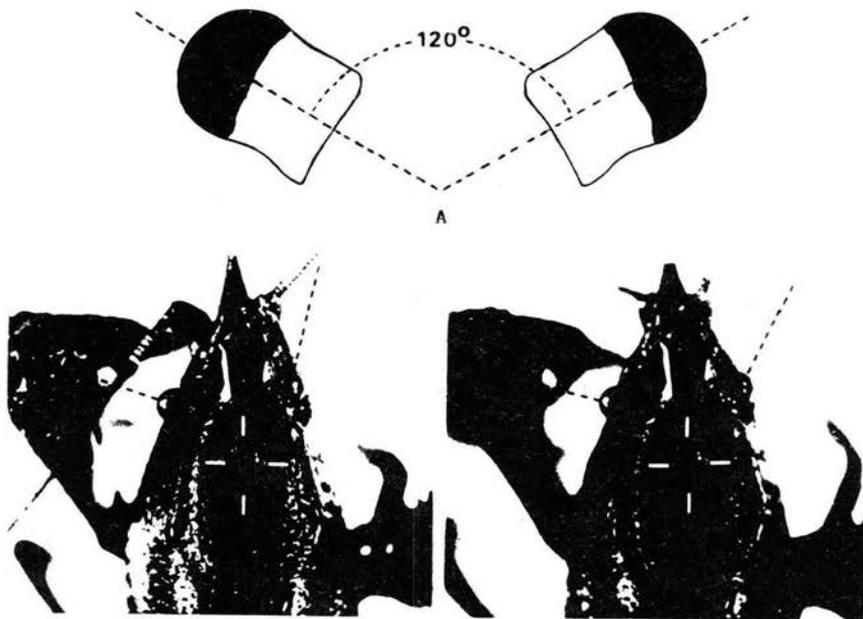


Figura 10.- Se muestra el efecto de la lesión sagital del ganglio cerebral sobre la posición de los pedunculos oculares del acocil. A) El esquema superior muestra la relación de estas estructuras en un animal integro, al igual que en un animal con protocerebro aislado *in situ*. B) Las fotografías inferiores corresponden a animales operados con sección sagital. Las barras blancas señalan el lugar donde se realizo la intervención quirurgica; las líneas punteadas indican el eje mayor de cada pedúnculo ocular, que se mueve de manera independiente. (n = 10)

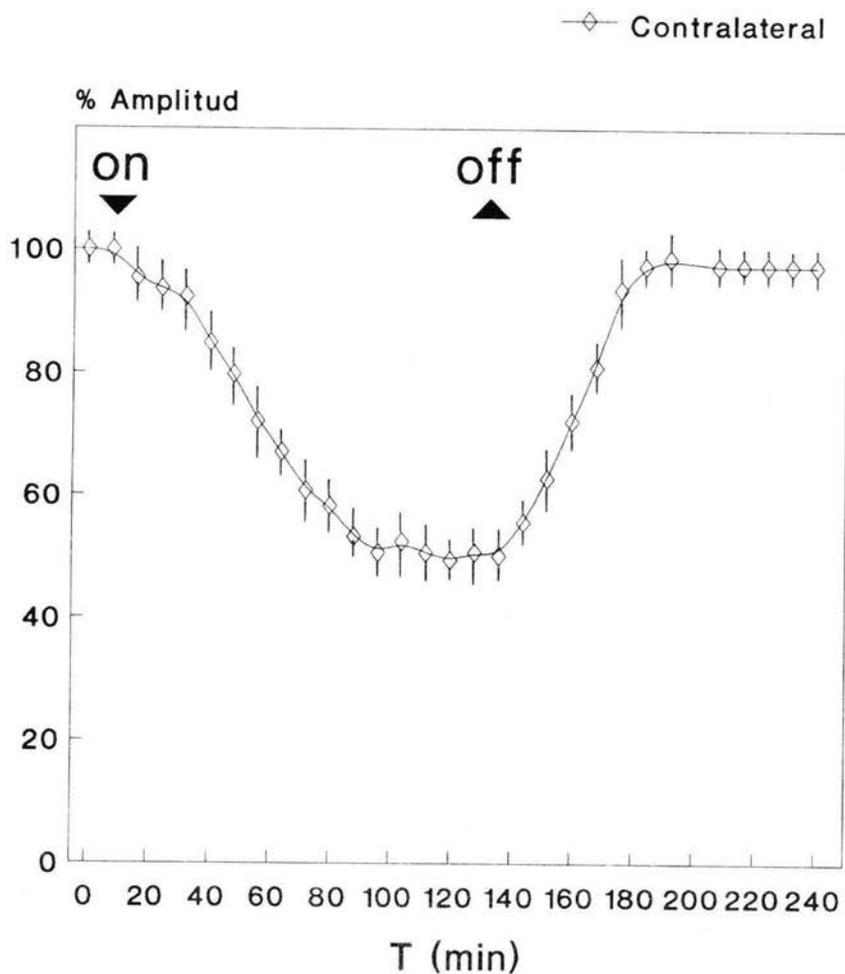


Figura 11.- Gráfica que muestra el curso temporal del reflejo consensual de un animal al que se le seccionó el protocerebro, separándolo del resto del ganglio cerebroides. Se indica el inicio (on) y la terminación (off) del estímulo contralateral. (n = 5)

observa una porción del registro de uno de los animales operados, se puede observar que la aparición del reflejo consensual es casi exactamente igual que en los animales normales, es decir, que se inicia de 10 a 15 min después de haber iniciado la estimulación contralateral, y finaliza de 12 a 25 min después de interrumpir el estímulo luminoso.

Este resultado viene a ser uno de los datos más importantes, ya que nos indica que las estructuras nerviosas involucradas en la génesis del reflejo consensual se encuentran contenidas en la vía visual, sin que involucre, al parecer a otras partes del sistema nervioso del crustáceo.

C) Sección Sagital del cerebro

c.1) Características de la preparación

Uno de los aspectos que más llamaron la atención fue que la sección sagital del cerebro provocó la pérdida del control de posición de ambos tallos oculares, éstos en reposo se encuentran formando un ángulo de aproximadamente 120° , con bisectriz corriendo a lo largo del eje longitudinal del cuerpo. Después de la sección sagital cada hemiserebro aparentemente se independiza uno del otro y cada uno de los ojos empiezan a moverse de manera asincrónica (Fig. 10b).

Entre las características que se observaron en esta preparación se confirman en este trabajo los patrones de oscilación circádica reportadas previamente (Barrera-Mera, 1979) y que se observaron en los organismos donde se aplicaron electrodos bilateralmente y que mostraron a) Ritmo circádico de igual amplitud en ambos, con el mismo ángulo de fase; b) Ritmo circádico robusto que se puede registrar por más de 12 días. Por otro lado

se evaluó el área de la pseudopupila y se observó que ambos ojos presentaron una pseudopupila muy clara de 115 a 140 facetas; que durante la fase nocturna incrementaba bilateralmente de 210 a 280 facetas claras. En algunos casos se observó un estado anisocórico del tamaño de la pseudopupila y una ligera disminución de la amplitud del ritmo ERG ipsilateral a la disminución del área brillante pseudopupilar.

Una de las posibles interpretaciones que parece atractiva a estos resultados, es que sobre la línea media en un área cercana al *cuerpo central* o al *punteo protocerebral*, ambas áreas involucradas por la lesión sagital, se deben encontrar alguno de los osciladores circádicos del animal, y que por lo menos se deben encontrar uno a cada lado de la línea media, como lo demuestran los patrones de registro descritos, ya que el lado afectado por la lesión vio atenuado la amplitud de su oscilación circádica. Esto probablemente se relacione con una lesión unilateral

c2) El reflejo consensual en animales con sección sagital del cerebro.

En los animales a los que se les ha hecho un corte sagital en el cerebro aparentemente pierden la capacidad de mostrar un reflejo consensual. En este trabajo pudo establecerse que en algunos animales (n = 3) se presenta la aparición del reflejo consensual, de menor magnitud que los organismos normales, lo más sobresaliente es el hecho de que se inicia después de varios minutos, es decir, su latencia es muy grande ya que en comparación con los animales integros, en que se presenta en los primeros 15 minutos, en los organismos con el cerebro hendido se presentó

aproximadamente 90 minutos después de haber iniciado la estimulación contralateral (Fig. 12); probablemente esto nos indique la existencia de una vía de carácter neural que corra de uno a otro pedunculo ocular, formando parte de alguna de las vías descritas por Wiersma y Mills (1965), quienes con métodos convencionales registraron la actividad de neuronas de respuesta sostenida en las comisuras circumesofágicas, es decir, que neuronas que llevan señales luminosas hacia regiones ganglionares toraco-abdominales

PARTE III EFECTORES PIGMENTARIOS

Los experimentos que se diseñaron para evaluar la migración de los pigmentos retinianos se realizaron en lotes de tres tallos oculares, los cuales recibieron estimulación contralateral; previamente se evaluó el reflejo consensual al menos en un ojo de cada lote. De este modo se prepararon tallos oculares a los 15, 30, 45 y 60 minutos, con los cuales se efectuaron las mediciones.

d.1) Efecto del Pigmento Próximal

En la Figura 13 se puede apreciar que durante la estimulación para evocar el reflejo consensual, el pigmento próximal del ojo contralateral parece seguir un curso normal de su estado de adaptación a la luz hasta la máxima dispersión observada, tanto en animales intactos como aquellos en los que se hicieron manipulaciones quirúrgicas, En la gráfica se puede observar que el PP alcanza su máxima dispersión aproximadamente a los 15 min de iniciada la estimulación contralateral, lo cual coincide con el inicio del reflejo consensual, por lo que pudiera inferirse que la parte inicial de este fenómeno es debida a una vía neural que produce la migración del PP. Sin embargo cabe hacer notar que en

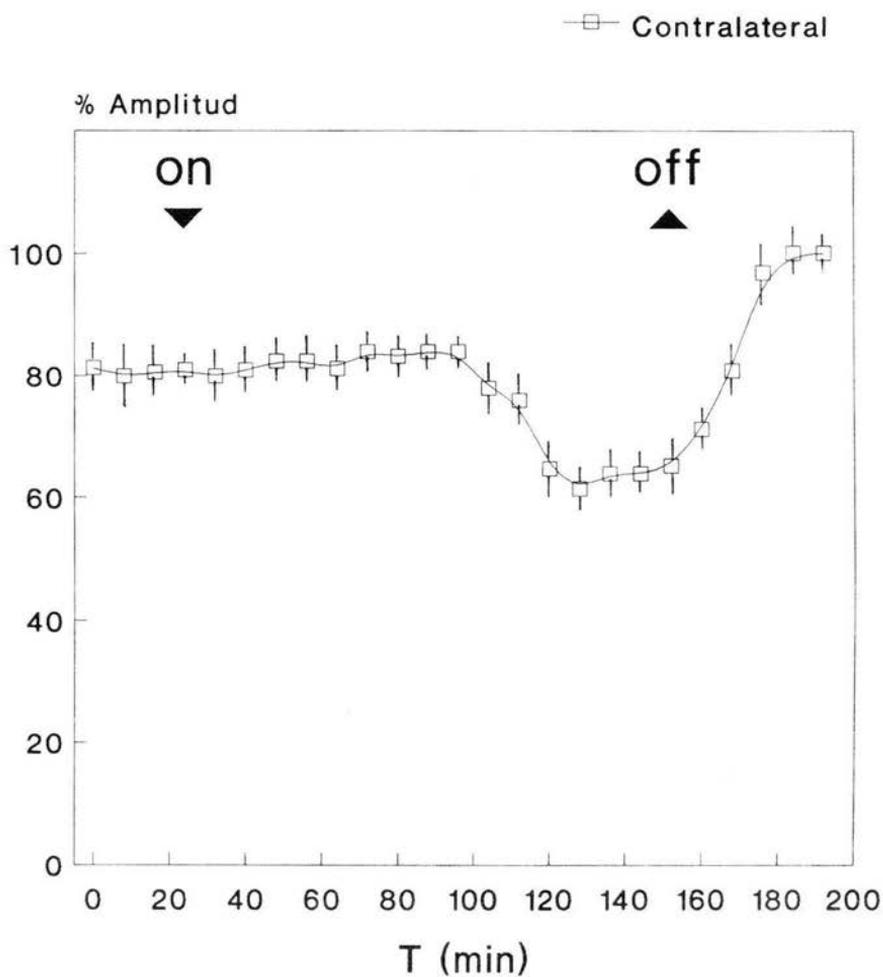


Figura 12. Gráfica en la que se muestra el curso temporal de una preparación con sección sagital del ganglio cerebroide; se muestra el registro en ambos ojos. Notese que el reflejo consensual aparece aproximadamente 90 min después de haber iniciado la estimulación. Inicio de la estimulación unilateral (on) y su terminación (off). (n = 3)

los organismos con cerebro hendido, el tiempo que tarda en observarse la respuesta refleja es de 90 min, ésto nos indica que probablemente las vías que controlan la migración del PP desde el ojo ipsilateral fueron seccionadas, o bien que algunos núcleos del cerebro, cercanos a la línea media resultaron lesionados con la manipulación experimental, quizás se trate de núcleos en los que se localice el (o los) sincronizadores bilateral (es) o sus vías en el protocerebro de estos animales.

d.2) Efecto del Pigmento Distal

El caso del PD fue muy diferente, ya que como es conocido su migración alcanza un 75 % aproximadamente 30 min después de iniciar la estimulación, alcanzando su máximo aproximadamente a los 60 min, dependiendo de la intensidad luminica utilizada. En el animal integro la migración del PD siguió un curso normal de adaptación en ambos ojos, como se aprecia en la figura 14. Resultados similares se obtuvieron con animales con Protocerebro aislado *in situ*, lo cual nos confirma la hipótesis de que las estructuras que intervienen en la generación del reflejo consensual se encuentran contenidas en la vía visual, esto es células fotorreceptoras de la retina, neuropilos del TO, nervio óptico y centros visuales del protocerebro. La comprobación de esta hipótesis se efectuó en los animales con cerebro hendido, los cuales sufrieron una migración de los pigmentos muy tardía, pareciendo necesitar de la integridad de la vía visual para expresar normalmente esta respuesta refleja.

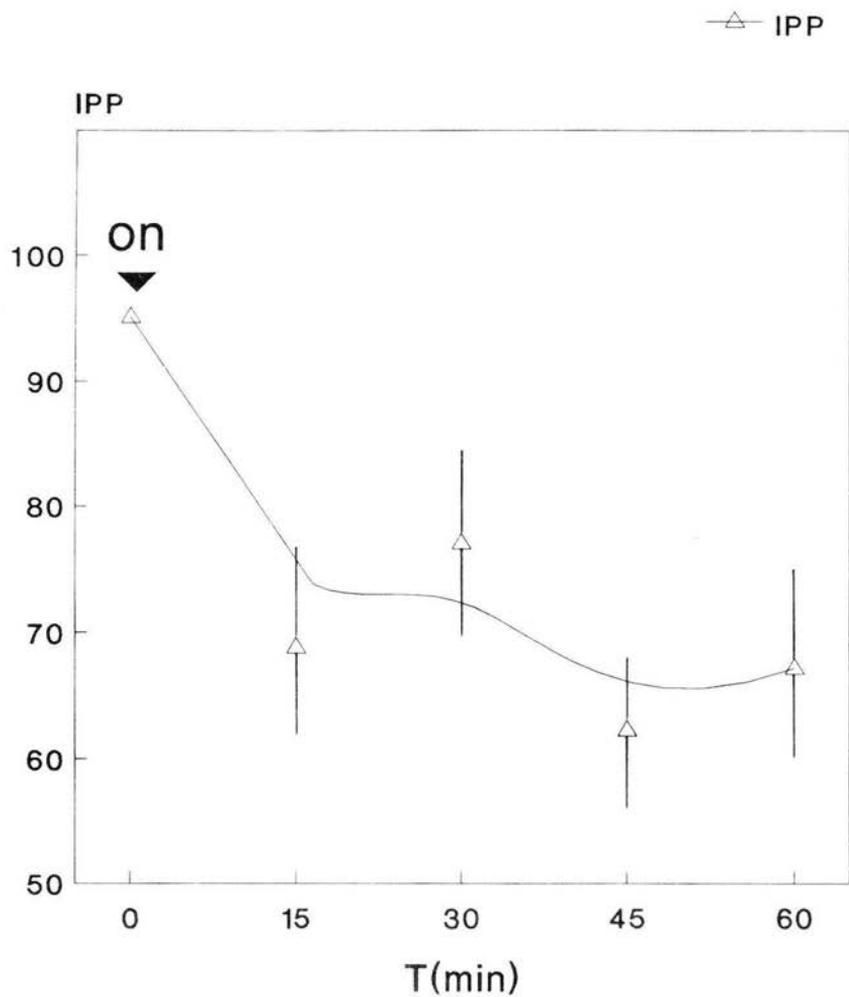


Figura 13. Gráfica en la que se muestra la migración del pigmento proximal al evocar el reflejo consensual. Se señala el inicio de la estimulación contralateral (ON). (n = 5 para cada punto).

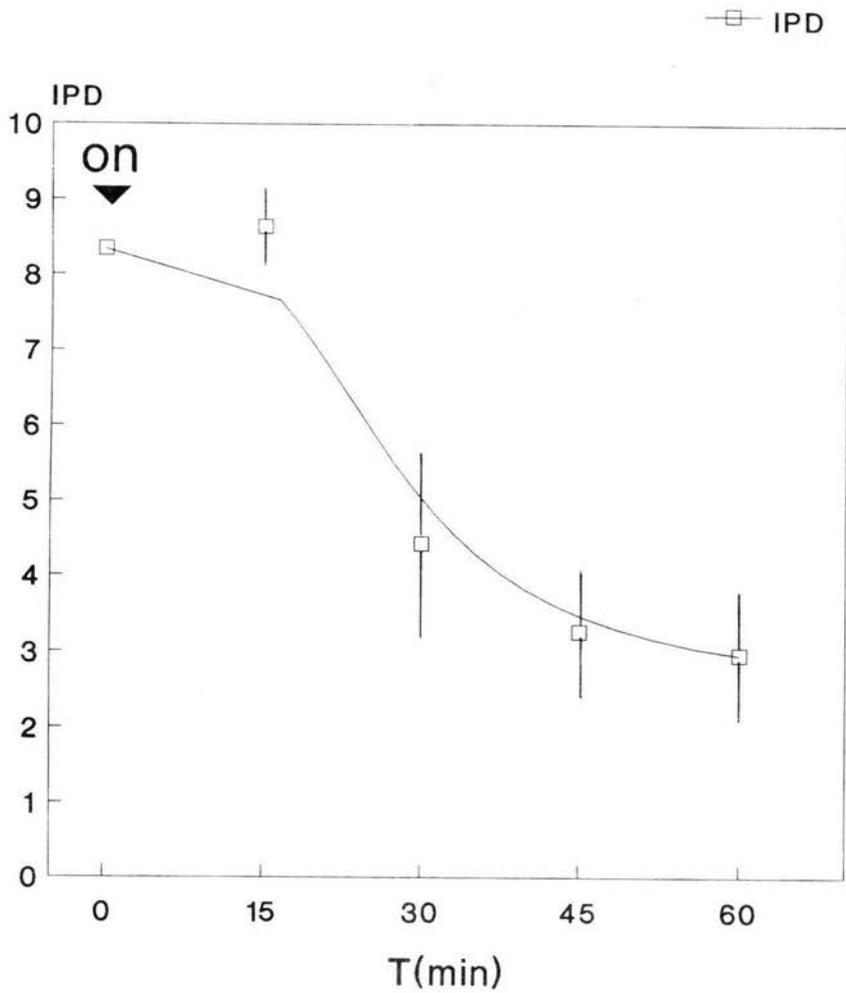


Figura 14. Gráfica en la que se muestra la migración del pigmento distal al evocar el reflejo consensual. se señala el inicio de la estimulación contralateral (ON). (n = 5 para cada punto).

DISCUSIÓN

El reflejo consensual es una respuesta contralateral fotomotora de los vertebrados, que parece estar ausente en los insectos, en el acocil consiste en la respuesta del ojo contralateral cuando es estimulado fóticamente el lado ipsilateral; así en los crustáceos se puede observar que existe una clara disminución de la amplitud del ERG después de aplicar luz contralateral, este tipo de respuesta es similar a lo que ocurre en los vertebrados, sin embargo la duración de este fenómeno es muy prolongada cuando se estudia en el acocil, y como se muestra en los resultados no se debe a contaminación luminosa.

Por otro lado, todos nuestros resultados sugieren fuertemente que el reflejo consensual forma parte de un complejo mecanismo de regulación de la entrada de luz en cada uno de los TO's (Wiersma y Yamaguchi, 1966; Wiersma y Mills, 1965), en el que se tiene como último efector a los pigmentos accesorios, por una parte actuando directamente sobre la migración del PP; por lo que es factible suponer la existencia de axones que desciendan desde la lámina ganglionar del ojo estimulado y que establezca conexiones con la lámina ganglionar contralateral. Desde los clásicos trabajos de Wiersma de la década de los 60's se sabe de la existencia de fibras heterolaterales que establecen conexiones entre diversas estructuras de ambos TO's, asimismo se ha reportado el acople que presentan las SG's en el isópodo *Porchelia dilatatus* (Chiang y Steel, 1985). Del mismo modo, consideramos también que existen vías que actúan sobre la liberación de la HPDL de la glándula sinusal por lo que es probable que el reflejo consensual se deba,

al menos en parte, a la migración del PD.

En la primera parte de los resultados se muestran los criterios utilizados para establecer los márgenes paramétricos en los que se presenta el reflejo consensual. En ellos se observa que es indispensable contar con una completa adaptación a la obscuridad, de hecho, en algunos de nuestros experimentos requirieron más de tres horas para poder obtener el registro de esta respuesta refleja.

El hecho de que reflejo consensual se presente con aplicación de intensidades mayores a los 15 lx nos indica que esta respuesta se debe a la migración de los pigmentos accesorios. Recientemente se ha propuesto que el sistema neurosecretor del tallo ocular esta colocado en la vía final común de los diferentes estímulos luminosos que recibe el organismo; ya sean de los propios ojos compuestos como de los fotorreceptores extrarretinianos (Aréchiga y cols., 1991, Comunicación Personal). En consecuencia, se puede plantear que la modulación de la entrada de luz al receptor retiniano también podría estar involucrada como una última acción de la estimulación inicial directa de esta propia vía final común.

La intensidad necesaria para provocar la aparición del reflejo consensual oscila desde los 15 lx, como mínimo, hasta más de 220 lx, con el dispositivo de registro empleado, sin que esto excluya la posibilidad de que también se genere con intensidades mayores; lo cual coincide con el rango dinámico de migración de los pigmentos accesorios (Rodríguez-Sosa y Aréchiga, 1982). Si además observamos el curso temporal de nuestro registro y lo relacionamos con los tiempos de migración de los pigmentos accesorios, se puede observar que el reflejo consensual aparece

aproximadamente de 10 a 15 min después de haber iniciado la estimulación luminosa en el ojo ipsilateral, lo cual coincide con el tiempo que tarda en realizar su migración el PP ^(Ollivo y Larsen, 1978), nuestros resultados obtenidos con el análisis de los índices pigmentarios coinciden con este punto. Al continuar la estimulación se puede observar que aumenta la depresión del ERG, dependiendo de la intensidad utilizada, lo que relacionamos con el desplazamiento del PD, y coincide con nuestros resultados mostrados en la parte de índices pigmentarios. Estos valores parecen indicar que una vez que se inicia la estimulación luminosa el PD sigue su curso normal de migración de manera simultánea en ambos ojos, lo que a su vez directamente permite plantear la existencia de vías neuronales que acoplen a los sistemas OX-GS de cada ojo y permiten la sincronización de la respuesta, como ya ha sido demostrado parcialmente para crustáceos isópodos por técnicas electrofisiológicas ^(Chiang y Steel, 1985). En nuestro caso, creemos que debe existir un mecanismo sincronizador del reflejo consensual, por lo que la vía propuesta debe recibir múltiples aferencias en su trayecto a través de la región protocerebral del ganglio cerebroide.

Los experimentos realizados a lo largo del ciclo nictameral muestran que el reflejo consensual también se rige por el ritmo circadiano del ERG, disminuyendo hacia su fase activa (noche) e incrementándose durante su fase de reposo (día); a este respecto los experimentos realizados muestran dos posibilidades, una primera es que la vía del reflejo consensual establece conexiones con alguno de los osciladores circádicos del crustáceo, que pueden estar localizados en el ganglio cerebroide, como lo proponen

Larimer y Smith (1980), o bien en el propio tallo ocular. La segunda proposición puede ser que el ritmo circádico del ERG actúe sobre la vía final común, esto es sobre el sistema OX-GS y que sea independiente de las vías que inciden sobre él; el diseño de nuestros experimentos no permite discriminar entre estas dos opciones. Una tercera opción para explicar el comportamiento circádico del reflejo consensual, es que en condiciones de obscuridad continua, las variaciones en la amplitud del ERG se deben al comportamiento circádico intrínseco de los fotorreceptores, y en menor grado a la migración del PP (Aréchiga y cols., 1992; comunicación personal)

Por otro lado, se realizaron experimentos en los que se cambió la duración del estímulo luminoso, estas manipulaciones nos proporcionan información sobre el papel de los componentes del ERG durante el reflejo consensual. Cuando se aplican pulsos de luz de 30 μ seg, sólo se presenta el componente HI del ERG de Naka y Kuwamura (1959), mientras que pulsos de mayor duración permiten la aparición del componente HII, además de HI. La interpretación de estos experimentos mostró que la respuesta refleja se debe principalmente al componente HII, y en mucho menor grado al componente HI, por lo que es probable que la vía neural sobre la que se expresa el reflejo consensual se establezca desde neuronas que ascienden hasta la lámina ganglionar del lado ipsilateral y ejerzan su influencia en las células retinulares del lado contralateral como ha sido demostrado parcialmente para la migración del PP (Ludolph y cols., 1973), actuando sobre los componentes del ERG en los fotorreceptores, y que en su trayecto descendente establecen contactos con diferentes estructuras, tanto

ipsi como contralaterales, probablemente estas conexiones se establezcan además con las fibras colaterales del tracto OX-GS (Andrew y Saleudin, 1978; Andrew y cols., 1978); en este sentido se ha proporcionado muy recientemente evidencia de axones que ascienden por el tallo ocular hasta la lámina, y que al parecer se trata de neuronas serotoninérgicas (Aréchiga y cols., 1990), por lo que suponemos que la vía neural del reflejo consensual pueda estar relacionada con este tipo de neuronas.

Con el fin de delimitar las posibles aferencias que recibe el cerebro y que pudieran influir sobre la aparición del reflejo consensual se realizaron experimentos en los que se desconectan las diversas estructuras que participan en esta respuesta, cuya integración ocurre en el cerebro del crustáceo. En primer termino se practicó la separación del protocerebro *in situ*, los resultados muestran que el reflejo consensual persiste, y que además su registro es más claro, se puede interpretar que al eliminar las aferencias mecano y quimiorreceptoras que llegan hasta los centros de asociación del protocerebro, manteniendo la integridad de la vía visual, la respuesta refleja que se observa, unicamente es debida a los centros visuales. Estos datos sugieren que los centros encargados de la modulación de la entrada de luz pudieran encontrarse en la vía visual, ésto no excluye la posibilidad de que las influencias de los fotorreceptores extrarretinianos del cordón nervioso ventral, a pesar de haber sido seccionadas, no se reciban, ya sea por alguna vía humoral o de otro tipo. Por otro lado se ha sugerido que la vía final común, en relación al estudio de ritmos circadianos, es activada por la acción de fotorreceptores extrarretinianos. En experimentos en los que se

han eliminado las retinas de ambos ojos, observandose la persistencia de la ritmicidad circádica (Aréchiga y cols., 1985).

Los experimentos de sección sagital del cerebro marcaron algunos aspectos de interes, ya que se puso de manifiesto la existencia de una vía neural que atraviesa el protocerebro, probablemente entre el cuerpo central y el puente protocerebral, y que asciende hasta el ojo contralateral; quizas se trate de alguna de las neuronas heterolaterales descritas por Wiersma y Yamaguchi en 1965. Además observamos que el reflejo consensual se presenta aún en estas condiciones pero de manera retardada, ya que tarda más de 90 min en llevarse a cabo, una primera interpretación de estos datos es que la activación del ojo contralateral es debida, al menos parcialmente a la liberación de hormonas del ojo estimulado (Ipsilateral), sin embargo, creemos que existen otras vías descendentes que atraviesan los lobulos del cerebro ipsilateral hasta llegar a las conexiones circunesofágicas y ascender hasta el TO contralateral (Wiersma y Mills, 1965), el tiempo que tarda en presentarse esta respuesta refleja se relacionaria con el establecimiento de conexiones indirectas que realizen la actividad refleja después de que la vía original se ha lesionado. Cabe notar que en los animales con protocerebro aislado *in situ*, y que además tenían la lesión del cerebro hendido de manera simultanea, ya no presentan reflejo consensual.

Las observaciones sobre la variación circádica en los fotorreceptores (Page y Larimer, 1975 a y b; Larimer y Smith, 1980) así como en vías neurales específicas (Wiersma y Yamaguchi, 1965; Aréchiga y Wiersma, 1969), permiten postular la existencia de un mecanismo eferente de naturaleza neuroendócrina encargado de

la sincronización de los ritmos originados en diferentes estructuras de la vía visual del acocil (Barrera-Mera, 1978)

Dicho mecanismo regulador, debe contemplar la presencia de fotorreceptores, tanto retinianos como extrarretinianos, ya que se han realizado experimentos en los que se han eliminado ambas retinas, manteniéndose los ritmos de liberación hormonal, así como otros ritmos locomotores; estos receptores deben activar al sistema neural hipotético que se encarga de la medición del día solar, es decir del reloj circadiano (Barral y Barrera-Mera, 1989). Para éllo se ha postulado que el lugar donde se encuentra este reloj circadiano es el ganglio cerebroide (Page y Larimer, 1976), sin embargo, no ha sido posible descartar el papel que juegan los neuropilos del tallo ocular, ya que realizando experimentos en los que se lesiona al cerebro se ha observado una persistencia del ritmo circadiano (Barrera-Mera, 1978). Por otro lado, en los experimentos en los que se realiza un corte sagital del cerebro se ha demostrado que el reflejo consensual se pierde (Barrera-Mera, 1978), al menos parcialmente. Esto implica la presencia de vías neurales que corren hacia el lado contralateral, probablemente representadas, como se señaló anteriormente, por neuronas de disparo sostenido (Wiersma y Yamagushi, 1966; Barrera-Mera y Abasta, 1978), asimismo, se ha documentado que el efector de este ritmo circádico, está representado por los pigmentos retinianos accesorios de ambos ojos, regulados por la liberación de hormonas producidas por el complejo Organo X - Glándula Sinusal, que completan un fenómeno lento. Como lo muestra la presencia de una vía humoral necesaria del control circádico. En los experimentos en los que se han practicado cortes sagitales

en el cerebro, como ya se mencionó, se ha observado que se pierde, al menos parcialmente, el reflejo consensual. Para estos casos se planteó la existencia de una vía neural fotosensible que desciende del tallo ocular, dirigiéndose hacia el lado contralateral para activar al sistema OX-GS, para completaría dicho reflejo por la liberación específica hormonal .

De los intentos por demostrar si en el sistema visual de los crustáceos existe una influencia mutua, es decir, si existe un reflejo consensual equivalente al observado en los vertebrados, Parker ⁽¹⁸⁹⁷⁾ reportó en el siglo pasado que cada ojo funcionaba de manera independiente, en este caso Parker tomó en cuenta únicamente el aspecto morfológico de la posición de las inclusiones pigmentarias de las células retinulares. Bennitt en 1924 reportó que en el acocil *Cambarus sp* estan bajo control del sistema nervioso, ya que al mantener en obscuridad a uno de los ojos, éste presentaba una relativa migración hacia la adaptación a la luz, contradiciendo los experimentos de Parker, Posteriormente, el mismo Bennitt ⁽¹⁹³²⁾ reportó que en crustáceos de cutícula delgada, como *Palaemonetes sp.* o *Palaemon sp.* había contaminación luminosa ya que la luz puede penetrar a través del exosqueleto. En tanto que en crustáceos de cutícula gruesa como *Cambarus sp.*, *Cancer carcinides*, *Libinia sp.* y *Hamarus americanus* se podía evitar dicha contaminación luminosa, por lo que concluyó que debido a la falta de inervación en los efectores pigmentarios, la adaptación bilateral a la luz podía explicarse en base a cambios humorales producto de la secreción endócrina. Finalmente en las dos últimas décadas se ha documentado la interrelación funcional de ambos tallos oculares, concluyendo que la actividad circádica

retiniana del acocil, presenta una potente sincronización bilateral como resultado de la efectiva acción integradora del sistema nervioso. Este interesante fenómeno de integración bilateral está mediado por conexiones neurales que atraviezan el cuerpo medio del protocerebro de estos animales, en los que además, existe una jerarquía equivalente entre las estructuras oscilantes que rigen el ritmo circádico del electrorretinograma de ambos tallos oculares.

Hata ahora se ha propuesto un modelo simple de control circadiano sobre la sensibilidad retiniana en el acocil (Fig 15), que sin embargo, podría comprender al menos tres pares de osciladores interacoplados, e involucran a dos grupos de fotorreceptores (Larimer y Smith, 1980), así se ha propuesto que cada uno de estos centros oscilatorios actua con diferente intensidad. Si se evalua a cada uno de estos osciladores por separado se puede observar que cada uno de ellos pueden sostener la oscilación del sistema durante algunos ciclos. Cuando el sistema se encuentra acoplado e intacto, se genera un poderoso ritmo de sensibilidad retinal que puede mantenerse por semanas e incluso meses, aún en condiciones extremas (Larimer y Smith, 1980). Los argumentos que apoyan este modelo se basan en que el ritmo circadiano se mantiene aún después de seccionar las conexiones circunesofágicas (Barrera-Mera, 1976); ésto indica que no se reciben influencias modulatorias de otra parte del sistema nervioso del organismo, y que estos osciladores deben de encontrarse en el sistema tallo ocular - ganglio cerebroide (Page y Larimer, 1975). Por otro lado se ha observado que en condiciones normales, cuando el ritmo se expresa libremente, las fluctuaciones

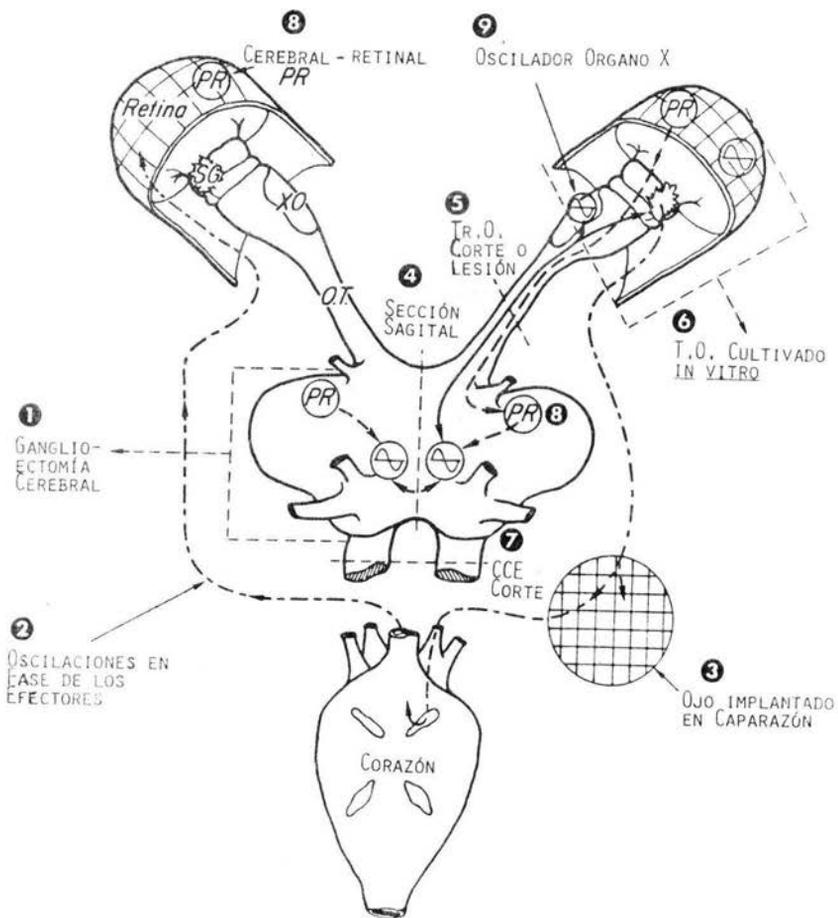


Figura 15. En el esquema se muestran a manera de un resumen diagramático los componentes y mecanismos de acople involucrados en el control circádico del ritmo de amplitud del ERG. Tomado de Larimer y Smith, 1980.

en la oscilación se manifiestan de manera similar en ambos ojos, lo que implica la presencia de sincronización bilateral (Barrera-Mera, 1985), al parecer regulado por hormonas propias del tallo ocular (Rodríguez y Aréchiga, 1982; Aréchiga, 1977), aunque cada ojo es capaz por si mismo de mantener su propia oscilación (Barrera-Mera, 1990). Así se ha descrito que la HPDL es liberada del complejo OX-GS de manera circádica (Aréchiga y Mena, 1975); sin embargo, aún no se ha comprendido la manera en que se controla la liberación. En animales cerebrotomizados persiste el ritmo circadiano de sus pigmentos accesorios (Barrera-Mera, 1976), por lo que al menos uno de los osciladores debe de localizarse en el TO (Larimer y Smith, 1980; Barrera-Mera, 1985) activando el mecanismo de liberación en el complejo OX-GS de ese lado (De la Vega y cols., 1986), que podría localizarse en la retina.

Por otro lado se observa una pérdida, parcial o total, del ritmo del ERG al practicar la sección sagital del ganglio cerebroide, así como por lesiones mecánicas o químicas del tracto óptico, (Larimer y Smith, 1980), sin embargo, en algunos casos se pudo apreciar una persistencia del ritmo del ERG aún después de separar sagitalmente al protocerebro (Barrera-Mera, 1985). Estos datos sugieren la existencia de un complejo sistema oscilador - efector en fase, funcionando como osciladores independientes sincronizados para cada ojo. Los resultados existentes han mostrado la existencia de centros circadianos, localizados en el protocerebro cerca de la línea media, en los cuales se establecen conexiones con los lóbulos ópticos del lado ipsilateral, así como conexiones neurales hacia el lado contralateral que pueda modular la liberación de la HPDL (Barrera-Mera y Berdeja-García, 1979).

De acuerdo al modelo propuesto por Larimer y Smith (1980) parece ser necesario la presencia de estructuras cerebrales que realicen la sincronización bilateral de los efectores circadianos. Se ha señalado (Barrera-Mera, 1979), sin embargo, que deben existir vías que descienden por el tracto óptico estableciendo sinápsis contralateralmente en el protocerebro, y que estos cuerpos deben mandar sus axones hacia el sistema neurosecretor ipsilateral para activar la vía humoral (Barral y Barrera-Mera, 1989). En estos centros del ganglio cerebroide se ha propuesto la existencia de fotorreceptores extrarretinianos que intervengan en el control de la sincronización del oscilador circádico del ERG actuando sobre los efectores del marcapasos circádico (Page, 1982), localizados tanto en el ganglio cerebroide (Larimer y Smith, 1980), o bien en el propio TO (Barral y Barrera-Mera, 1990).

Todos estos datos sugieren que deben existir mecanismos integrativos de gran complejidad dentro del sistema nervioso central que asuman el control de la liberación de estas neurosecreciones. Para ello se han propuesto mecanismos de control sináptico y no sináptico que gobiernan la actividad de estas neuronas. Para el primer caso, existen evidencias de que los potenciales de acción de neuronas secretoras inducen la liberación de las hormonas contenidas en sus terminales. Morfológicamente se conoce la existencia de fibras colaterales en los axones que forman el tracto OXGMT-GS de algunos astácidos (Andrew y cols., 1978). La presencia de estas fibras, sugiere que pudieran ser una de las vías de control sináptico de las células neurosecretoras del TO (Cooke y Sullivan, 1982). Cabe mencionar que hay evidencias

acerca de potenciales sinápticos en células del sistema OXGMT-GS dados por Iwasaki y Satow (1970; 1971). Estos autores muestran que mediante la estimulación del nervio óptico es posible registrar potenciales postsinápticos inhibitorios, por otro lado, se han observado células del OXGMT que son inexcitables y eléctricamente silentes (Cooke y Sullivan, 1982), así como neuronas que responden con trenes de potenciales a manera de ráfagas (Iwasaki y Satow, 1969; Barral, 1986).

La activación sináptica de las células secretoras implica la presencia de receptores postsinápticos específicos que respondan a neurotransmisores. En preparaciones aisladas de OXGMT-GS de cangrejo se ha evaluado a sensibilidad a algunos agentes (Cooke y Sullivan, 1982), entre los que sobresalen los efectos de la serotonina (5-HT) y el ácido γ -aminobutírico (GABA). La 5-HT aplicada a los somas, inhibe potenciales de acción espontáneos, utilizando el registro intracelular en *Cardisoma* y *Podophtalmus* cuando se aplica a las terminales, el efecto de la 5-HT en *Cardisoma* inhibe potenciales de acción con un efecto similar al GABA (1×10^{-3} M), sin embargo, en *Podophtalmus* se incrementa la actividad eléctrica espontánea. Los sitios farmacológicamente activos pueden ser los colaterales del tracto (OXGMT-GS) (Cooke y Sullivan, 1982), además es factible que debido a las diferentes hormonas liberadas puedan existir diferentes conexiones sinápticas mediadas por transmisores diversos (Cooke y Sullivan, 1982).

Entre las evidencias de control no sináptico de la neurosecreción, se ha propuesto que las células secretoras pueden regularse a si mismas, constituyéndose como su propio receptor, integrador e iniciador de la actividad (Cooke y Sullivan, 1982).

Asimismo, observaciones directas e indirectas sugieren que estímulos externos como la luz disparan los mecanismos de control hormonal (Glantz y cols., 1983), como ha sido demostrado para la HPDL durante el ciclo nictameral en *Procambarus bousieri* (Aréchiga y Mena, 1975). Debido a esto, es factible suponer la existencia de mecanismos de liberación en los que el estímulo externo sea la luz o la obscuridad (Aréchiga y cols., 1985b).

Por otro lado, la actividad de las células neurosecretoras en el TO puede ser modulada trans-sinápticamente por dos vías: A) el sistema visual intrínseco del TO, y B) Por otras influencias aferentes que convergen por canales multisensoriales representados por el vasto número de células eferentes del nervio óptico, en ese sentido, se ha postulado que influencias extrarretinales pueden modular la liberación de neurohormonas (Aréchiga y cols., 1985).

Las proposiciones acerca de la existencia de una mutua sincronización de los osciladores circadianos dispuestos de manera simétrica en el sistema nervioso central se ha sugerido tanto para vertebrados como para invertebrados (Barrera-Mera, 1979). Es conveniente señalar que hasta ahora ningún modelo explica claramente la interacción causante del acoplamiento de diversas estructuras con actividad circádica, por lo que se pudiera suponer que la vía que sigue este reflejo consensual fuera la misma que realiza el control del sincronizador bilateral de la oscilación circádica del ERG en estos crustáceos (Fig. 16).

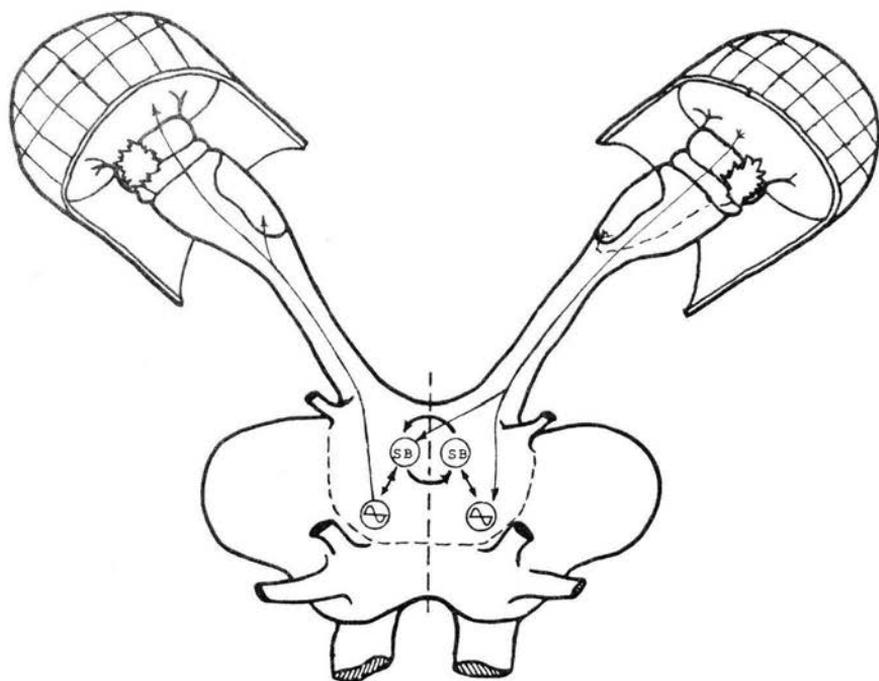


Figura 16. En este esquema basado en el modelo de Larimer y Smith (1980), se presenta la ubicación probable de la vía que controla al reflejo consensual. Puede apreciarse la estrecha asociación de los osciladores circádicos con los sincronizadores bilaterales (SB) y sus eferencias hacia la Vía Final Común y hacia la Lámina Ganglionar. Modificado de Larimer y Smith, 1980.

CONCLUSIONES

1.- El reflejo consensual aparece de 10 a 15 min después de haber iniciado la estimulación unilateral, la amplitud original del ERG se recupera de 12 a 25 minutos después de que cesa la estimulación unilateral.

2.- Los tiempos de iniciación y finalización del reflejo consensual coinciden con la migración de los pigmentos retinianos, iniciando la migración del pigmento próximal y continuándose con la migración del pigmento distal.

3.- El reflejo consensual en el acocil se debe, al menos en parte, a la migración de los pigmentos retinianos, próximal y distal, confirmando resultados previos, sin embargo, al comparar nuestros resultados con los ya reportados, se puede apreciar que se requieren intensidades lumínicas mayores para evocarlo.

4.- Las manipulaciones experimentales de protocerebro aislado in situ, muestra que las estirpes celulares involucradas en la generación del reflejo consensual se encuentran contenidas únicamente en la vía visual, sin que sea posible descartar la existencia de influencias extrarretinianas, de otra parte del sistema nervioso central por alguna vía humoral.

5.- La manipulación experimental de cerebro hendido, ha mostrado que además de la vía humoral producida por la liberación de HPDL de cada ojo, parece existir una vía neural que cruza a lo largo del protocerebro y asciende hasta el ojo contralateral. Ya que si bien, el reflejo consensual no se pierde tarda más de 90 min en aparecer, en comparación con los 12 min que tarda en evocarse esta respuesta refleja en animales normales.

6.- El curso temporal del reflejo consensual a lo largo de un periodo de 24 horas, sigue un patrón muy similar al curso temporal de la migración de los pigmentos retinianos, ya que en la durante la noche el reflejo consensual es mucho menor que durante el día.

7.- El papel funcional del reflejo consensual en la conducta del organismo, es al parecer, el de regular la intensidad luminosa que ingresa a cada uno de los ojos del animal, permitiendo la sincronización bilateral de la respuesta visual.

8.- Al parecer el mecanismo que regula la acción del reflejo consensual en el acocil es extraretiniano, formando parte del sincronizador circadiano del animal, debiendo localizarse en el protocerebro del organismo, o bien, en los neuropilos de ambos tallos oculares.

BIBLIOGRAFIA

- Andrew, R.A. y Saleudin, A.S.M., 1978, Structure and innervation of a crustacean neurosecretory cell. *Canad. J. Zool.* 56:423-430.
- Andrew, R.A., Orchard, I. y Saleudin, A.S.M., 1978, Structural re-evaluation of the neurosecretory system in the crayfish eyestalk. *Cell. Tiss. Re.* 190:235-246.
- Aréchiga, H., 1977, La ritmicidad circadiana de los crustáceos. Tesis Doctoral, Fisiol. Biophys. CIEA-IPN, México D.F.
- Aréchiga, H. y Fuentes, B., 1970, Correlative changes between retinal pigments position and electroreinoqram in crayfish. *Physiologist.* 13: 137.
- Aréchiga, H. y Mena, F., 1975, Circadian variations of hormonal contents in the nervorus syetem of the crayfish. *Comp, Biochem, Physiol.*, 52a:581-584.
- Aréchiga, H. y Wiersma, C.A.G., 1969, Circadian rhythm of responsiveness in crayfish visual units. *J. Neurobiol.* 1:71-85.
- Aréchiga, H. y Huberman, A., 1980, Hormonal modulation of circadian behavior in crustaceans. *Front Hormone Res.* 6:16-34.
- Aréchiga, H., Cortes, J.L. y Rodríguez-Sosa, 1991, EN PRENSA, Synergestic influences of amines and peptides in the control of crustacean retinal Responsiveness. (Comunicación Personal)
- Aréchiga, H., Fernandez-Quiroz, F., Fernandez-de-Miguel, F. y Rodríguez-Sosa, L., 1992, EN PRENSA, The circadian system of crustaceans. COMUNICACION PERSONAL.
- Aréchiga, H., Bañuelos, E., Frixione, E., Picones, A. y Rodríguez-Sosa, L., 1990, Modulation of crayfish retinal sensitivity by 5-hydroxy-triptamine. *J. Exp. Biol* 150: 123-143.
- Aréchiga, H., García, U. y Rodríguez-Sosa, L., 1985, Neurosecretory role of crustacean eyestalk in the control of neural activity. *En: Selverston, A.I. (Ed), Model neural networks and behavior.* Plenum Press Corp. pp 361-379.
- Aréchiga, H., Fuentes-Pardo, B. y Barrera-Mena B., 1974, Influence of retinal shielding pigments on light sensitivity in the crayfish. *Acta Fisiol. Lat.*24: 601-611.
- Barral, J., 1986, Análisis de la actividad eléctrica espontánea en neuronas secretoras del tallo ocular del acocil *Procambarus clarkii* Girard (Crustacea, Decapoda). Tesis de Licenciatura E.N.E.P. Iztacala U.N.A.M., México.
- Barral C.J. y Barrera-Mera, B., 1989, Caracterización del Reflejo Consensual en el acocil. IX Coloquio de Investigación E.N.E.P. Iztacala U.N.A.M.

Barral, J.A. y Barrera-Mera, B., 1990, Evidencias de fotorrepción extrarretiniana en el tallo ocular del acocil. X Coloquio de Investigación. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala U.N.A.M.

Barrera-Mera, B., 1976, Effects of cerebroid ganglion lesion on ERG circadian rhythm of the crayfish. *Physiol. Behav.* 17:59-64.

Barrera-Mera, 1978a, Neural coupling between left and right electroretinographic circadian oscillations in the crayfish *Procambarus bowyeri*. *Comp. Biochem. Physiol.* 16A: 427-432.

Barrera-Mera, B., 1978b, Modulación eferente de la actividad circádica electroretinográfica del acocil *Procambarus bowyeri*. Tesis de Maestría. Depto. de Fisiología, Fac. Medicina, U.N.A.M. México.

Barrera-Mera, B., 1979, Sincronización bilateral de la actividad circádica en el sistema visual del acocil. Tesis de Doctorado. Depto. de Fisiología, Fac. Medicina, U.N.A.M. México.

Barrera-Mera, B., 1985, Visual circadian rhythmicity in split brain crayfish: A plastic behavioral expression of symmetric circadian pacemakers. *Brain Res. Bull.* 15(2):203-208.

Barrera-Mera, B. y Abasta, E., 1978, Electrophysiological evidences of mutual modulatory influences on the retinal activity of the crayfish *Procambarus bowyeri* (O). *Brain Res. Bull.* 3(2):101-106.

Barrera-Mera, B.; Cibrian-Tovar, J. y Garcia-Diaz, E., 1980, The role of protocerebrum in the modulation of circadian rhythmicity in crayfish visual system. *Brain Res. Bull.* 5(6):667-672.

Barrera-Mera, B. y Berdeja-García, Y., 1979, Bilateral effects on retinal shielding pigments during monocular photic stimulation in the crayfish, *Procambarus*. *J. Exp. Biol.* 79:163-168.

Barrera-Mera, B. y Block, G.D., 1990, Protocerebral circadian Pacemaker in Crayfish: Evidence for mutually coupled pacemakers. *Brain Res.* 522: 241-245.

Bennett, R., 1932a, Diurnal Rhythm in the proximal cells of the crayfish retina. *Physiol. Zool.* 5: 65-69

Bennett, R., 1932b, Physiological relationship in the eyes of decapod crustacea. *Physiol. Zool.* 5: 49-64

Bernhard, C.G., Hoglund, G. y Ottoson, D., 1963, On the relation between pigment position and light sensitivity of the compound eye in different nocturnal insects. *J. Insect Physiol.* 9: 573-586.

Bernhard, C.G. y Ottoson, D., 1960, Comparative studies on dark adaptation in the compound eye of nocturnal and diurnal lepidopteran. *J. Gen. Physiol.* 44: 195-204.

- Bryceson, K.P., 1986, Diurnal changes in photoreceptor sensitivity in a reflecting superposition eye. *J. Comp. Physiol.* 151: 367-380.
- Carlisle, D.B. y Knowless, F.G., 1953, The neurohaemal organs in crustaceans. *Nature* 172:144.
- Carpenter, M.B., 1976, Human Neuroanatomy. 7a Ed. Williams and Wilkins Co. U.S.A. pp 380-384.
- Carpenter R.H.S., 1986, Neurofisiología. Ed. Manual ModernoS.A. de C.V. México D.F. pp 166-230.
- Chapman, R.F., 1982, The Insects: Structure and function. 3a. Ed Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Chiang R.G. y Steel, C.G.H., 1985, Coupling of electrical activity from contralateral sinus gland. *Brain Research* 331:142-144
- Cooke, I.M. y Sullivan, R.E., 1982, Hormones and neurosecretion. En: The Biology of Crustacea, Bliss, D.E. (Ed) Vol. 3 Academic Press N.Y.
- De Bruin, G.H.P. y Crisp, D.J., 1957, The influence of pigment migration on vision of higher crustacea. *J. Exp. Biol.* 34:447-463.
- De la Vega, T., Vergara, p. y Aréchiga, H., 1986, Ritmo circadiano de neurosecreción en el órgano X del ocelo. *Res. XXIX Congr, Nl. Cienc. Fisiol.* (224), Guanajuato, México.
- Dowling, J.E. y Chappell, R.L., 1972, Neural organization of the median ocellus of dragonfly, II Synaptic structure. *J. Gen. Physiol.* 60: 148-165.
- Duncan, G y Croghan, P.C., 1973, Excitation and adaptation in the cephalopod retina: An equivalent circuit model. En: Biochemistry and physiology of visual pigments. Langer, H. (Ed). Springer-Verlag, N.Y. pp 229-233
- Egushi E., 1966, Rhabdome structure and receptor potentials in single crayfish retinular cells. *J. Comp- Physiol.* 66:411-430.
- Fain, G.L y Lisman, J.E., 1981, Membrane conductances of photoreceptors. *Proq. Biophys. Molec. Biol.* 37: 91-147.
- Ferlund, P., 1971, Chromactivating hormones of *Pandalus borealis*, isolation and purification of light adapting hormone. *Biochem Biophys Acta* 237:519-529.
- Ferlund, P., 1976, Structure of light adapting hormone from the shrimp *Pandalus borealis*. *Biochem Biophys Acta* 439:17-25.
- Frixione, E., Aréchiga, H. y Tsutsumi, V., 1979, Photomechanical migrations of pigments granules along retinula cells of the crayfish. *J. Neurobiol.* 10(6):573-590.

- Frixione, E. y Hernandez, J., 1989, Modulation of screening-pigment position in crayfish photoreceptor by serotonin: Possible involvement of Na^+/K^+ -ATPase activity. *J. Exp. Biol.* 143: 459-473.
- Glantz, R., 1968, Light adaptation in the photoreceptor of the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Vision Res.* 8:1407-1421.
- Glantz, R., 1971, Peripheral versus central adaptation in the crustacean visual system. *J. Neurophysiol.* 34:485-492.
- Glantz, R., Kirk, M.D. y Aréchiga, 1983, Light input neurosecretory cells. *Brain Research* 265:307-311.
- Horridge, G.A., 1965, *The Arthropoda.*, En: Bullock, T.H. y Horridge, G.A., 1965, Structure and function of nervous system of invertebrates. W.H. Freeman and Co. Sn Francisco. U.S.A.
- Iwasaki, S. y Satow, Y., 1969, Spontaneous grouped discharge of secretory neuron soma of the x-organ of the crayfish, *Procambarus clarki*. *J. Physiol. Soc. Japan* 31:629-630.
- Iwasaki, S. y Satow, Y., 1970, Spike initiation of neurosecretory neuron soma in Na^+ - deficient or tetrodotoxin medium. *Procambarus clarki*. *J. Physiol. Soc. Japan* 32:37-38.
- Iwasaki, S. y Satow, Y., 1971, Sodium- and Calcium- dependent spike potentials in the secretory neuron soma of the x-organ of the crayfish, *J. Gen. Physiol.* 57:216-238.
- Jarvilehto, M., 1979, Receptor potentials in invertebrate visual cells. En: Hand book of sensorial physiology. Vol. VII/6a, Vision in Invertebrates. Autrum, H. (Ed). Springer Verlag. Berlin. pp 315-356.
- Kaestner, A., 1969, *Invertebrate Zoology*, Vol. II, Wiley Interscience N.Y.
- Kaestner, A., 1970, *Invertebrate Zoology*, Crustacea, Vol. III, Wiley Interscience N.Y.
- Kleinholz, L.H., 1976, Crustacean neurosecretory hormones and physiological specificity. *Am. Zool.* 16:151-166.
- Koopowitz, H. y Stowe, G., 1974, Neural modulation of photoreceptor activity in the bee moth *Galleria mellonella*. *J. Exp. Biol.* 60: 796-805.
- Krasne, F.B. y Hee-Lee, S., 1977, Survival of functional synapses on crustacean neurons lacking cell bodies. *Brain Res.* 121:43-57.
- Larimer, J.L. y Smith, J.T.F., 1980, Circadian rhythm of retinal sensitivity in the crayfish: modulation by the cerebral and optic ganglia. *J. Comp. Physiol.* 136:313-326.

López-Antunez, L., 1979, Anatomía funcional del sistema nervioso. Limusa México. pp 325-360.

Ludolph, C., Pagnanelli, D. y Mote, M.I., 1973, Neural control of migration of proximal screening pigment by retinular cells of the swimming crab *Callinectes sapidus*. Biol. Bull. 145: 159-170.

McLaughlin, P., 1980, Comparative morphology of recent crustacea. W.H. Freeman and Co. San Francisco. pag. 139.

Meyer-Rochow, V.B., 1988, A theoretical analysis of geometrical ray optics in arthropod eye with co-axial lens system. J. Yokohama City Univ., Series Nat. Sci., 3:1-19.

Naka, K.I. y Kishida, K., 1966, Retinal actions potentials during dark and light adaptation. En: The functional organization of the compound eye. Bernhard, C.G. (Ed). Pergamon Press. London pp 251-266.

Naka, K. y Kuwabara, M., 1959, Two components of the ERG from the compound eye of the crayfish. J. Exp. Biol. 36:51-61.

Olivo, R.F. y Chrismer, K.L., 1979, Spectral sensitivity of screening-pigment migration in retinula cells of the crayfish *Procambarus*. Vision Res. 20: 385-389.

Olivo, R.F. y Larsen, M.E., 1978, Brief exposure to light initiates screening pigment migration in retinula cells of the crayfish *Procambarus* J. Comp Physiol. 125:91-96.

Page, T.L., 1976, Extraretinal photoreception in entrainment of crustacean rhythms. Photochem. Photobiol. 23: 245-251.

Page, T.L., 1982, Extraretinal photoreception in entrainment and photoperiodism in invertebrates. Experientia 38:1007-1013.

Page, T.L. y Larimer, J.L., 1975a, Neural control of circadian rhythmicity in the crayfish, I. Locomotor activity rhythm. J. Comp. Physiol. 97:59-80.

Page, T.L. y Larimer, J.L., 1975b, Neural control of circadian rhythmicity in the crayfish, II. The ERG Amplitude rhythm. J. Comp. Physiol. 97:81-96.

Parker, G.H., 1897, Photomechanical changes in the retinal pigment cells of *Palaeomonetes*, and their relation to the central nervous system. Bull. Musc. Comp. Zool. Harv. 30: 275-300.

Picones, A. y Aréchiga, H., 1990, Electrophysiological properties of crayfish retinal photoreceptors. J. Exp. Biol. 150: 111-122.

Rodríguez-Sosa, L. y Aréchiga, H., 1982, Range of modulation of light sensitivity by accessory pigments in the crayfish compound eye. Vision Res. 22: 1515-1524.

Sandeman, D.C.; Sandeman, R.E. y Aitken, A.R., 1988, Atlas of serotonin-Containing neurons in optic lobes and brain of crayfish, *Cherax destructor*. J. Comp Neurol. 269:465-478.

Schram, F., 1986, Crustacea. Oxford University Press. N.Y., pp 3-15.

Shaw, S. y Stone, S., 1982, Photoreception, En: Bliss, D., 1982, The Biology of Crustacea Vol. III 291-367.

Strausfeld, N.J. y Nässel, D.R., 1981, Neuroarchitectures serving compound eyes of crustacea and insects. En: Autrum, H. (Ed), 1981, Volume VII/6b. Comparative physiology and evolution of vision in invertebrates. B: Invertebrate visual centers and behavior I. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.

Stryer, L., 1987, The Molecules of visual excitation. Sci Am. 257:42-50.

Stryer, L., 1986, Ciclic GMP cascade of vision. Ann. Rev. Neurosci. 9:87-119

Susuki, T., Makino-Tasaka, M. y Egushi, E., 1984, 3-dehydroretinal (vitamin A₂ aldehyde) in crayfish eye. Vision Res. 24:783-787.

Varela, F., 1974, Los ojos de los insectos. Ed. Alhambra. España.

Vázquez, L. y Villalobos, A., 1977, Arthropoda, Facultad de Ciencias U.N.A.M. México.

Wald, G. y Hubbard, R., 1957, Visual pigments of a decapod crustacean: The lobster. Nature (Lond) 180:278-280.

Weale, R.A., 1968, Photochemistry and Vision. En: Photophysiology. Giese, A.C. (Ed). Academic Press N.Y. Vol. IV, 1-45

Wiersma C.A.G. y Mills, P.J., 1965, Descending neural units in the commissure of the crayfish central nervous system, and integration of visual, tactile and proprioceptive stimuli. J. Comp. Neurol. 125: 67-94.

Wiersma, C.A.G. y Yamaguchi, T., 1965, The neuronal components of the optic nerve of the crayfish as studied by single unit analysis. J. Comp. Neurol. 128: 333-358