



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

**Efecto de la recuperación del sueño sobre la memoria de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* sometidas a privación de sueño.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**Licenciado en Psicología**

**P R E S E N T A:**

**José Fidel Laguna Chimal**



**DIRECTOR DE TESIS:  
Dr. Fructuoso Ayala Guerrero**

**Ciudad Universitaria, CD. MX., 2022.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Facultad de Psicología de la UNAM por darme la oportunidad de formarme académicamente.

- Al doctor Fructuoso Ayala Guerrero por su invaluable apoyo desde el inicio de este proyecto, hasta el final, por siempre alentarme a continuar a pesar de las adversidades; pero sobre todo por mostrarme el universo infinito de la investigación en el campo del sueño.
- A los doctores del sínodo por guiarme con sus comentarios y observaciones, siempre resolvieron todas mis dudas para poder concluir exitosamente esta tesis.

## Agradecimientos

*A mi madre, por haberme enseñado desde su amor incondicional a nunca quedarme en mi zona de confort y ser un ser de aprendizaje constante para poder lograr mis objetivos de vida. Gracias por siempre estar a mi lado en momentos de gran felicidad y también en los más difíciles. Me has mostrado que no hay imposibles, que la felicidad depende de uno, de disfrutar cada segundo de la vida, que lo material y el dinero no son prioridad en este universo. Gracias por enseñarme a amar a otros seres vivos, y a respetarlos, están llenos de amor puro. ¡Y madre mía, sin tu amor y apoyo, este gran sueño nunca lo hubiera concluido, este logro también es tuyo.*

**¡TE AMO!**

*A Anita y Ale, por haberme dado un segundo hogar lleno de cariño y tranquilidad, gracias por haber sido como mis segundos padres que me guiaron y dieron fortaleza en todo momento. Gracias por nunca dejarme solo, por esas risas y pláticas durante las comidas, por los abrazos y besos. Anita, gracias por sembrar en mí ese amor por los viajes, y Ale, gracias por darme salud y procurarme.*

*A Fede, por todas las enseñanzas, por todo lo que compartiste conmigo durante la universidad, gracias por el cariño genuino que me brindaste, por ser mi hombro y brazo en aquellas noches de desesperanza, pero sobre todo por permitirme entrar en tu hogar, estoy en deuda contigo. Donde estés, que Dios siempre te cuide, tu familia te espera.*

*A mis tías Blanco por abrirme su corazón y su hogar en un momento sumamente difícil de mi vida, su amor fue un pilar clave para que esté culminando éste sueño; a tía Carmen que desde el cielo me cuidas y me acompañas, gracias por que siempre me compartiste un pedacito de ti a pesar de las circunstancias, yo también te quise mucho; a tía Horté por enseñarme a ser dedicado y responsable, gracias por llegar a mi*

corazón con ese sazón tan delicioso que tienes; a tía *Juli* por su paciencia, cobijo y por escucharme, comprenderme y darme un consejo, junto a tío *Jon*, logran que tenga paz en mi alma.

A tí *abuelito Rafa*, gracias por tan maravillosa familia que formaste, por tus historias y pláticas, y por el tiempo que pasamos juntos, hasta el cielo te mando un abrazo, te echamos de menos.

A *Haci*, *Rodri*, *Yeimy*, *Tec*, *Rodri jr.*, *Rafa*, *Giancarlo*, *Pepe*, *Marlene*, *Boni*, *Saúl*, *Sammy* y *Angelito* por quererme tanto, son especiales en mi vida.

A *Aline* y *Fidel*, mis hermanos, mis compañeros y mis confidentes, a quienes el universo me compartió. Ustedes me han acompañado durante todo este proceso, más allá del lo académico, me han enriquecido con su experiencia de vida, a pesar de la distancia siempre están en mi corazón y pensamiento.

A *Omar* por todo tu amor, siempre alentándome a culminar esta meta, por acompañarme en este camino llamado vida, por el inicio de una nueva etapa en la que confío que sumaremos para lograr más sueños.

A *Hector*, *Ana Pao* y *Amanda* por no dejarme desistir de llegar a la meta, por haberme apoyado en la recta final de este proyecto, lograron que no perdiera la fé en mí, los quiero con todo mi corazón.

A *Male* por ser mi madre espiritual, por caminar conmigo en todo momento, por tus consejos y por enseñarme a ser una persona pensante. ¡Te quiero mucho!

*"Considero que es muy importante detenerse  
en el tiempo para decirle y expresarle a la  
gente que amas cuánto los amas mientras ellos  
te puedan escuchar."*

Meredith Grey

## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>7</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>9</b>
<b>1.1. ANTECEDENTES.....</b>	<b>9</b>
1.1.1. <i>El Sueño y su función en el humano.....</i>	<i>9</i>
1.2.1. <i>Patron de sueño en distintas especies animales.....</i>	<i>15</i>
1.3.1. <i>Drosophila melanogaster: Sueño y memoria.....</i>	<i>20</i>
2.3.1. <i>Memoria .....</i>	<i>22</i>
3.3.1. <i>Sueño: efectos sobre el aprendizaje y memoria en Drosophila melanogaster .....</i>	<i>23</i>
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>24</b>
<b>2.1. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>24</b>
<b>2.1. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
2.1.1. <i>Hipótesis .....</i>	<i>24</i>
2.1.2. <i>Objetivo general .....</i>	<i>24</i>
2.1.3. <i>Objetivos específicos.....</i>	<i>24</i>
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
3.1.1. <i>Animales .....</i>	<i>25</i>
3.1.1. <i>Reproducción de las moscas.....</i>	<i>25</i>
3.1.2. <i>Diseño de estudio.....</i>	<i>27</i>
3.1.3. <i>VARIABLES.....</i>	<i>28</i>
3.1.4. <i>Método de privación de sueño .....</i>	<i>28</i>
3.1.5. <i>Recuperación de sueño.....</i>	<i>29</i>
3.1.6. <i>Prueba de aprendizaje.....</i>	<i>30</i>
3.2. <i>Análisis estadístico.....</i>	<i>32</i>
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1. RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
4.1.1. <i>Análisis e interpretación de los datos .....</i>	<i>33</i>
4.1.2. <i>Adquisición y consolidación del aprendizaje.....</i>	<i>35</i>
4.1.3. <i>Efectos de la privación y recuperación de sueño sobre el aprendizaje.....</i>	<i>37</i>
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>41</b>
<b>5.1. DISCUSIÓN .....</b>	<b>41</b>
<b>5.2. CONCLUSIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>5.3. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>45</b>
<b>6. REFERENCIAS .....</b>	<b>46</b>

## Resumen

El sueño es considerado un fenómeno complejo y esencial para la vida debido a que dentro de éste se desarrollan funciones de índole vital para todos los seres vivos, incluyendo el ser humano. Actualmente, existe un gran número de investigaciones dedicadas a estudiar las funciones que desempeña el sueño, desde invertebrados hasta los vertebrados. La hipótesis de algunos de esos estudios se ha enfocado en elucidar el papel que juega el sueño en los procesos de aprendizaje y memoria. Aunado a esto, estudios realizados en la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, han demostrado como la falta de sueño afecta el aprendizaje en dos de sus etapas, la adquisición y la consolidación. La tercera etapa del aprendizaje, la recuperación de la información, es decir la memoria, actualmente está en investigación debido a que algunos hallazgos han mostrado la estrecha relación que existe entre el sueño y los procesos de aprendizaje y de la memoria.

El objetivo del presente estudio fue analizar el efecto de la recuperación del sueño sobre la memoria en *Drosophila melanogaster* mediante una tarea de aprendizaje que consistió en la localización de alimento. Para dicho estudio se utilizaron 100 moscas de la especie *Drosophila melanogaster* de la cepa tipo silvestre a las cuales se les privó parcialmente de alimento; se dividieron en dos grupos: el grupo control (n=50), y el grupo experimental (n=50), ambos grupos fueron sometidos al mismo protocolo de aprendizaje con la única diferencia de que el grupo experimental se sometió a la privación de sueño con una duración de 6 horas en la segunda mitad de la noche. Todas las moscas fueron entrenadas de manera individual durante 6 días consecutivos, la tarea consistió en la localización de alimento utilizando pistas visuales de color (verde y rojo). Al finalizar los días de entrenamiento, el grupo experimental fue sometido a la privación de sueño por 6 horas mediante estimulación mecánica con ayuda de un brazo giratorio en la segunda mitad de la noche.

Al séptimo día, ambos grupos realizaron la tarea con la finalidad de registrar los aciertos, errores y omisiones. En el grupo experimental se observó un aumento en la tasa de errores, así como omisiones y en contraste una disminución en la tasa de aciertos de

manera considerable. Posteriormente, a este grupo se le permitió dormir durante la noche del séptimo y octavo día, y al noveno día nuevamente se realizó la tarea de localización de alimento para registrar aciertos, errores y omisiones. Finalmente, encontramos que con el periodo de reposo se observó una disminución en la tasa de errores y omisiones, y en contraste un incremento en la tasa de aciertos, lo que se consideraría como una recuperación de los procesos de memoria. Sin embargo, los valores no retornan a los valores previamente registrados antes de la privación de sueño, pero sí existe una diferencia en comparación con el primer día de aprendizaje. Con lo cual podremos concluir que el sueño participa activamente en los procesos de consolidación y recuperación de la información en *Drosophila melanogaster*.

# Capítulo I

## 1.1. Antecedentes

### 1.1.1. El Sueño y su función en el humano

#### 1. El sueño

El sueño se caracteriza por ser un fenómeno fisiológico activo, complejo y fundamental para los seres vivos, del mismo modo que beber y comer, el sueño mantiene en correctos niveles los procesos fisiológicos que son esenciales para la sobrevivencia del organismo puesto que regula importantes funciones conductuales y fisiológicas tales como, el desarrollo, depuración de toxinas del sistema nervioso central, conservación de la energía, modulación del sistema inmunológico, procesos cognitivos entre otros (Siegel, 2008; Zielinski y Krueger, 2011; Zielinski *et al.*, 2016). Además, actualmente se sabe que el sueño se presenta en todas las especies animales, desde los vertebrados, pasando por los mamíferos, así como en organismos simples o invertebrados (Allada *et al.*, 2008).

Hablando específicamente del humano, el fenómeno del sueño se caracteriza por presentar una serie de estados funcionales y conductuales que son controlados por grupos de núcleos situados en el tronco encefálico que proyectan sus conexiones a zonas particulares del cerebro nombrado sistema reticular activador ascendente (Ayala-Guerrero *et al.*, 2008; Torterolo *et al.*, 2010). Dado que las funciones de nuestro cuerpo varían a lo largo de 24 horas, es decir en un periodo circadiano, el organismo requiere de un mecanismo natural capaz de medir el tiempo, conocido como reloj biológico. Por lo tanto, el sueño pertenece al ritmo circadiano de sueño-vigilia y está altamente conservado en los organismos vertebrados, en la mayoría de ellos es evidente la importante interacción del sueño con los procesos de aprendizaje y memoria, mientras que en los invertebrados se le denomina ciclo actividad-reposo partiendo desde el punto de vista evolutivo y la función de éste aún se encuentra en constante investigación (Miyazaki *et al.*, 2017).

## 2. Etapas del sueño en el humano

En el humano sano el periodo de sueño ocurre en un horario específico y está conformado por tres estados de vigilia claramente definidos: la vigilia, la etapa de sueño no-MOR (NMOR), que involucra al sueño ligero (fase N1 y N2) y al sueño de ondas lentas (fase N3), y finalmente la etapa de sueño de movimientos oculares rápidos (sMOR).

Además, durante una noche normal, se presentan de 4 a 5 ciclos de sueño los cuales se desarrollan en secuencia a lo largo de 8 horas. Cada uno de estos ciclos tiene una duración de 90 a 120 minutos aproximadamente. Por otro lado, se ha observado que durante la primera mitad de la noche hay mayor porcentaje sueño de ondas lentas, mientras que en la segunda mitad de la noche con etapas progresivamente más largas se registra mayor cantidad de sMOR. Asimismo, en cada etapa de sueño ocurre la activación o inactivación alternada de sistemas neuronales específicos (Martínez-González *et al.*, 2004; Ayala-Guerrero *et al.*, 2010; Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE *et al.*, 2015; Zielinski *et al.*, 2016) (Figura 1).

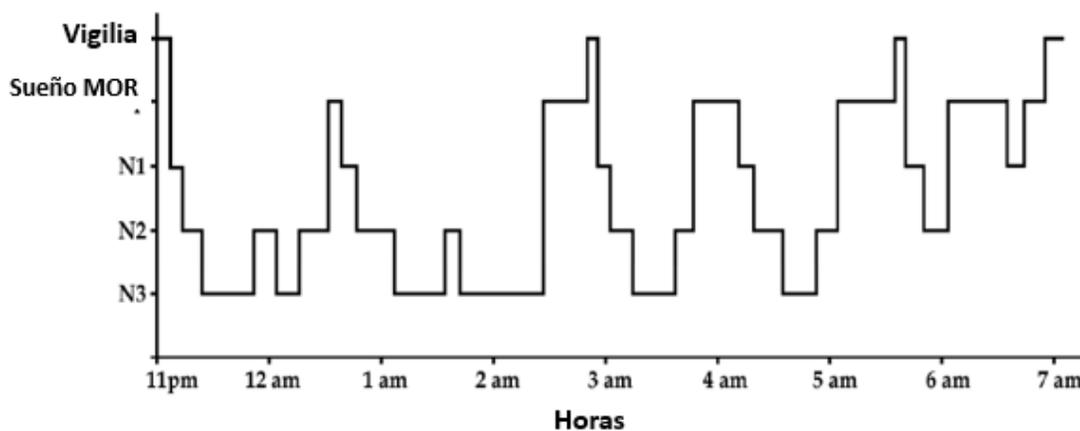


Figura 1. Hipnograma donde se representa la aparición consecutiva de las etapas de sueño en el humano sano. Iniciando desde vigilia, a los pocos minutos aparecen las fases N1 y N2 de sueño NMOR las cuales conforman al sueño ligero y posteriormente aparece la etapa N3 de sueño de ondas lentas, finalmente transcurridos aproximadamente 90 a 120 minutos de haber iniciado el sueño, aparece la etapa de sMOR. Se observan de cuatro a cinco ciclos de sueño durante ocho horas de sueño continuas. Tomado de Acosta Peña E. (2012).

⇒ Vigilia

Durante la vigilia cuando el individuo está en interacción con el medio que lo rodea, sus niveles de atención y alertamiento son elevados. Por ejemplo, el tono muscular es alto y los movimientos corporales se controlan de manera voluntaria. Por otra parte, también la actividad respiratoria y cardíaca también se muestran bastante activos.

Durante la vigilia, los parámetros del electroencefalograma (EEG) muestran claramente actividad de baja amplitud y de frecuencia rápida (15-30 Hz) denominada ondas beta, pero si el sujeto cierra los ojos, destacará la actividad alfa (7-14 Hz) también conocido como vigilia pasiva con un nivel de alerta intermedio (Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE *et al.*, 2015).

⇒ Sueño no-MOR, N1

Periodo de somnolencia o de sueño ligero donde ocurre la transición de la vigilia al sueño, se caracteriza por el ligero incremento de la respuesta a estímulos externos o aplicados, por ejemplo, los táctiles o auditivos y es muy fácil despertar estando en esta etapa. La actividad muscular disminuye de manera progresiva e incluso pueden aparecer liegras activaciones musculares conocidas como mioclonías hípnicas. (Ayala-Guerrero *et al.*, 2010).

En el EEG se observa ritmo alfa, que es sustituido por actividad de frecuencia mixta de bajo voltaje donde predomina la actividad theta (4-8 Hz) de amplitud regular. El grafoelemento característico de esta etapa es la aparición de ondas bifásicas llamadas ondas agudas del Vertex (Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE *et al.*, 2015).

⇒ N2

En esta etapa disminuye la excitabilidad cerebral y se presentan dos grafoelementos típicos: el primero, los husos de sueño, que son ráfagas de ondas con una frecuencia de 14 a 18 Hz con una duración de 1 a 2 segundos que aparecen de forma breve e intermitente, las cuales se observan principalmente en zonas centrales y frontales en el EEG. El segundo, los complejos K, que son ondas de gran amplitud, compuestas por una fase negativa y

después una positiva, generalmente aparecen asociados a los husos de sueño. Durante N2 la frecuencia cardiaca, así como la temperatura corporal disminuyen progresivamente. (Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE *et al.*, 2015).

⇒ N3

Sueño de ondas lentas donde el dormir es más profundo y el trazo del EEG se caracteriza por ondas lentas de gran amplitud y baja frecuencia (0.5-4 Hz) llamadas ondas delta, la actividad cerebral se lentifica de manera significativa. No hay presencia de movimientos oculares y hay tono muscular, aunque éste es mínimo. Esta etapa se presenta aproximadamente a los 60 minutos de haber iniciado el sueño a partir de N1 (Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE *et al.*, 2015).

⇒ Movimientos Oculares Rápidos (SMOR)

También llamada fase paradójica, debido a que la actividad cerebral es similar a cuando se está despierto. En sujetos saludables la fase de SMOR aparece aproximadamente a los 90 min a partir de N1. La actividad del EEG se caracteriza por ráfagas de ondas theta que anteceden a los movimientos oculares y que por su morfología reciben el nombre de ondas dientes de sierra (2-6 Hz). Se observa actividad de alta frecuencia y de baja amplitud que corresponde a las ondas beta (14-35 Hz). En esta fase se presentan cambios fisiológicos importantes, por ejemplo, el ritmo cardíaco y la respiración aumentan, el tono muscular desaparece por completo y se registran movimientos oculares rápidos, por ello el nombre de Movimientos Oculares Rápidos (MOR). La fase tiene una duración aproximada de 15 minutos, al finalizar ese tiempo entonces se concluye con un ciclo de sueño y así se da inicio al siguiente, comenzando nuevamente con la fase N1 de sueño noMOR. Es importante mencionar que aparecen en promedio 5 ciclos más durante la noche, pero eso varía de un sujeto a otro (Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE *et al.*, 2015).

### **3. Variaciones fisiológicas y conductuales durante el sueño en el humano**

Para el estudio del sueño y de las fases que lo componen es necesario realizar el registro de distintas variables fisiológicas como lo son la actividad eléctrica cerebral (EEG), la actividad muscular (EMG) y el movimiento ocular (EOG), de ese modo se obtiene información acerca del grado de vigilancia y del grado de profundidad de sueño en la que el sujeto de estudio se encuentra (Ayala *et al.*, 2007). Así mismo, la temperatura corporal, la liberación de hormonas durante la noche y la actividad metabólica cerebral son otros parámetros fisiológicos que muestran cambios importantes durante la noche. Por otro lado, el fenómeno del sueño se caracteriza por la presencia de estados conductuales específicos como lo son: a) una postura estereotípica, b) reducción en la actividad motora voluntaria y c) un incremento en el umbral de la respuesta a estímulos externos, así como cambios neuroquímicos que caracterizan cada fase del sueño (Gómez-González *et al.*, 2012; Franco-Pérez *et al.*, 2012).

### **4. Funciones del sueño**

Actualmente, para el entendimiento de las posibles funciones del sueño, ha sido necesario el análisis de los mecanismos conductuales, celulares y moleculares que lo subyacen, partiendo también de las estructuras cerebrales que participan en la regulación del ciclo circadiano vigilia-sueño. El fenómeno del sueño, además de modular importantes procesos fisiológicos como son el aumento del metabolismo cerebral y de la actividad neuronal durante el sMOR, funge otros propósitos vitales para el organismo (Ayala Guerrero *et al.*, 2015). Por ejemplo, se ha descrito que mientras dormimos se lleva a cabo un proceso de restauración física durante la fase de sueño de ondas lentas, restauración que desde el punto de vista subjetivo es percibido por el sujeto como descanso (Vassalli *et al.*, 2009). También se han observado cambios importantes a nivel endócrino, ya que durante la primera mitad de la noche los niveles de la hormona del crecimiento aumentan, observándose un pico máximo de liberación específicamente en la fase de

sueño lento, y en contraste, durante las últimas horas de la noche se observa un aumento en plasma de la hormona del cortisol (Steiger., 2003).

Por otro lado, la privación parcial o total del sueño se ha utilizado como herramienta para observar las alteraciones y los cambios psicofisiológicos que ocurren en el organismo, de ese modo se puede estudiar el papel que juega el fenómeno del sueño en el organismo. De ese modo, distintos grupos de investigación trabajan con modelos experimentales en distintas especies animales (p. ej.: en ratas, ratón, perros, conejos, gatos, peces e invertebrados). Es necesario utilizar este tipo de modelos para que pueda ser generado nuevo conocimiento acerca de las distintas funciones del dormir, debido a que existen límites de índole bioético que prohíben la aplicación de estos métodos en el ser humano, por ejemplo, los experimentos relacionados con la privación de sueño, sea total o parcial. En 1995, Rechtschaffen y Bergmann reportaron una cascada de patologías progresivas que resultaron de la privación crónica de sueño en ratas. Registraron la pérdida excesiva de peso aún cuando había un alto consumo de alimento, apariencia desaliñada del pelaje y cambios en el tono de la piel, ésta se tornó de una coloración amarillenta acompañada de la aparición de úlceras en la zona plantar de las extremidades y cola. Estas observaciones coinciden con recientes investigaciones en donde la perturbación o falta de sueño producen un marcado debilitamiento del sistema inmunitario (Gast *et al.*, 2012; Hurtado Alvarado *et al.*, 2013).

También, se ha reportado que durante la fase de sMOR ocurre una elevada síntesis protéica en distintas regiones cerebrales conocida como plasticidad neuronal dependiente del sueño (Sossin *et al.*, 2010), esta síntesis es clave para una adecuada ejecución de importantes funciones cerebrales y cognitivas, como lo son el aprendizaje y la memoria (Kavanu, 1995; McDermott *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2008; Cirelli, 2013).

Ahora se ha reportado que el aprendizaje y la memoria se alteran significativamente post-privación o restricción de sueño, probablemente debido a cambios significativos en la tasa de la formación de nuevas neuronas (neurogénesis), dichos cambios son provocados por un decremento en los niveles de proliferación, diferenciación y sobrevivencia celular

que ocurre en la zona subgranular del hipocampo de la rata adulta (Guzmán Marín *et al.*, 2003; 2005; 2007; Roman *et al.*, 2005). También, la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en ratas macho adultas sufre cambios importantes, dicha permeabilidad se ve comprometida después que fueron sometidas a un periodo de privación de SMO durante varios días, lo cual indica que el fenómeno del sueño es fundamental para el mantenimiento físico de la barrera hematoencefálica y por ende del adecuado control de los desechos cerebrales (Gómez González *et al.*, 2013).

Por otra parte, se ha reportado que el sueño funge como un importante marcapasos de varios ritmos hormonales, por ejemplo, en ratas macho la privación del sueño modifica importantes mecanismos regulatorios de la conducta sexual en esa especie (Velázquez Moctezuma *et al.*, 1996). Finalmente, experimentos realizados en perros, ratas y conejos que fueron sometidos a privación de sueño agudo y crónico (7, 8 y 31 días), resultó ser fatal para estos organismos (Everson, 1995; Kleitman, 1963).

En conclusión, el sueño es un fenómeno del cual dependen importantes procesos cognitivos y sistemas fisiológicos, como lo son el aprendizaje y la memoria (Axmacher *et al.*, 2009), así como para la restauración de sistemas neuronales, hormonales y de un adecuado funcionamiento del sistema inmunológico; por consiguiente, si se perturba el sueño, de manera aguda o crónica, habrá fallas en la comunicación del sistema nervioso, y en un caso extremo inclusive la muerte.

### **1.2.1. Patrón de sueño en distintas especies animales**

Desde el punto de vista de la filogénesis, los vertebrados e invertebrados estudiados hasta el momento exhiben el fenómeno del “sueño”, lo cual indica que se ha conservado evolutivamente, por esa razón se considera como un fenómeno que es universal e innato de los seres vivos. Es por ello que para el estudio comparativo del sueño entre el ser humano y de las especies animales, es necesario el análisis de parámetros conductuales y electrofisiológicos específicos como lo son: la inmovilidad conductual, el umbral elevado a la respuesta ante estímulos ambientales externos, la reversibilidad conductual, un incremento compensatorio de sueño como consecuencia de la pérdida de este y una

posición corporal específica, organización circadiana, registro electroencefalográfico (EEG), electromiograma (EMG), electrooculograma (EOG), entre otros, respectivamente. (Ayala *et al.*, 2008;–2009). Y finalmente otro punto a considerar tiene que ver con el número y duración de las etapas de sueño que se presentan, puesto que varían de una especie a otra (Vessalli *et al.*, 2009).

#### **1.2.1.1. Arquitectura de sueño en mamíferos y aves.**

Con base en investigaciones, en los vertebrados como lo son los mamíferos y las aves, se han establecido dos estados de sueño puntuales: el sueño pasivo y el sueño activo.

El sueño pasivo se caracteriza por ser superficial y la respuesta a los estímulos externos es rápida, mientras que el sueño activo, es más profundo y se observa inmovilidad corporal y la respuesta a los estímulos ambientales a diferencia del sueño pasivo, no es rápida (Ayala *et al.*, 2008).

Por ejemplo, en roedores se ha establecido que el patrón de sueño se divide en tres fases: la fase de sueño de ondas lentas I (SOL I), sueño de ondas lentas II (SOL II) y la fase de sueño MOR (sMOR). En donde SOL I y II se caracterizan por una actividad delta de gran amplitud mientras que el sMOR se observan ondas de frecuencia rápido, pero de bajo voltaje, muy similar al sueño del humano (Franco-Pérez *et al.*, 2012). Por otro lado, en el gato se reportó que además de las 12.5 horas de sueño que presentan al día (ritmo ultradiano) en él también se observa la presencia de SOL I y SOL II, así como sMOR (Ramírez Salado *et al.*, 2007). Finalmente, en las aves se ha descrito la presencia de sueño lento y de sMOR, este último aparece en cientos de brotes con duraciones variables que van de los 8 a 10 segundos (Amlaner *et al.*, 1994; Rattenborg *et al.*, 2004).

### **1.2.1. Arquitectura de sueño en reptiles y anfibios**

Tanto los reptiles como los anfibios presentan un sistema nervioso primitivo, por lo que la ausencia de corteza cerebral en estas especies es evidente y, por consiguiente, la mayoría de los investigadores prefieren referirse al sueño mas como una etapa de reposo (Blanco Centurión, 2008).

Asimismo, con base en observaciones conductuales se ha reportado que tanto en reptiles como en anfibios los patrones de conducta durante el sueño están presentes. Por otro lado los registros y monitoreos que se han realizado son de tipo no continuo debido a las condiciones ambientales en las que se encuentran estas especies, y a pesar de ello se concluye que los anfibios y reptiles investigados hasta ahora muestran una fase de inmovilidad acompañada de una postura estereotípica y también se observa que aquellas especies con párpados tienden a mantenerlos cerrados durante la fase de reposo, y otros cambios fisiológicos reportados son la respiración y la frecuencia cardiaca con tendencia a disminuir (Libourel, 2015).

Además, otros de los rasgos comportamentales presentes durante el sueño en estas especies que se encuentran aún en investigación son: umbral elevado ante estímulos externos, compensación de sueño posterior a la privación de sueño (homeostasis del sueño), activaciones musculares rápidas durante el sueño activo y finalmente el índice de movimientos oculares rápidos que, aunque parece ser bajo es evidente (Libourel, 2015).

Por otra parte, con respecto a los patrones electrofisiológicos, lograr obtener registros fehacientes de la actividad cerebral de los anfibios y reptiles mientras se encuentran en la fase de reposo, ha resultado difícil debido a las diferentes metodologías utilizadas, así como de las regiones cerebrales registradas. Dichas investigaciones basan sus proyecciones gracias al análisis de la frecuencia y amplitud de las ondas cerebrales registradas, los hallazgos indican que tanto en anfibios como en reptiles la frecuencia del EEG disminuye durante el sueño, mientras que la amplitud del trazo en los anfibios se

observa una disminución, pero no así en los reptiles, ya que en esta especie la amplitud es variable. Finalmente, en los reptiles es poco probable que la atonía muscular ocurra, aunque algunos estudios reportan que conforme se profundiza en la fase de reposo la inmovilidad corporal se agudiza. Sin embargo, se ha descrito que en algunos reptiles se genera un patrón similar al sMOR, lo cual permanece en debate hasta la fecha; dado que puede ocurrir en presencia o ausencia de atonía muscular o de movimientos oculares rápidos (Flanigan, 1973; Ayala *et al.*, 1991; Siegel, 2008; Libourel, 2015).

Otro punto que destacar en los anfibios es que esta especie no presenta una fase de reposo delimitada, en ellos se genera un patrón de alertamiento constante debido a la alta vulnerabilidad a la que constantemente están sometidos por sus depredadores, eso hace que sea la única especie en presentar un bajo umbral de respuesta ante estímulos externos durante los periodos de inactividad (Hobson, 1967).

### **2.2.1. Arquitectura del sueño en peces.**

Esta especie de vertebrados ha sido también estudiada y el principal sujeto de investigación utilizado ha sido el pez cebra (*Danio rerio*). Los primeros hallazgos reportan que al igual que en el humano, el pez cebra muestra un desarrollo ontogénico del sueño, lo que indica que el porcentaje de sueño en el pez joven es mayor y conforme éste envejece la cantidad de sueño disminuye paulatinamente (Sorribes *et al.*, 2013).

Por otra parte, desde el punto de vista conductual del sueño, el pez cebra cumple con características similares al de los mamíferos: reversibilidad del movimiento corporal, incremento en el umbral para responder a estímulos ambientales y una clara regulación homeostática, ya que después de una privación de sueño prolongada, se observó una compensación de sueño (Zhdanova *et al.*, 2006).

Finalmente, un grupo de investigadores lograron desarrollar un polisomnógrafo basado en microscopía de fluorescencia que les permitió medir la actividad cerebral del pez cebra, aunado al análisis del movimiento ocular, la activación de los músculos, así como la frecuencia cardíaca, en donde todos estos parámetros fisiológicos sufren cambios durante

la fase de reposo. Gracias a estas técnicas de imagen avanzada se concluyó que esta especie muestra el fenómeno del sueño con características electroencefalográficas y neuroquímicas muy similares a las observadas en el humano, ya que el patrón de ondas obtenidas es análogo tanto al sueño de ondas lentas, así como al sueño MOR (Panula *et al.*, 2010; Leung *et al.*, 2019). Estas investigaciones ofrecen pistas clave acerca de la evolución del sueño y nos ayuda a entender la importante función biológica del dormir.

### **3.2.1. Sueño en invertebrados**

Respecto a los invertebrados, en estos organismos también se observa un patrón conductual de reposo muy similar a lo reportado en vertebrados; en la abeja, el acocil y la cucaracha, la presencia de una postura característica durante esta fase es evidente, así como un aumento en el umbral para responder a estímulos ambientales, además de una inmovilidad corporal prolongada. En estos insectos conforme la fase de reposo se profundiza, por ejemplo, en las cucarachas las antenas pierden su rigidez y en las abejas las alas presentan movimientos rápidos durante la noche (Ayala *et al.*, 2008; Seigel, 2008). Algo muy distinto ocurre con la polilla de la seda, la cuál presenta al menos cuatro estados de reposo bien identificados desde que se encuentra en estado larvario hasta convertirse en una crisálida. Y es así como en años recientes se ha logrado identificar algunos de los genes que promueven el estado de reposo en estas especies, uno de ellos es el gen *Sik3* que inicialmente fue identificado en el ratón y cuya función es la de promover el sueño no-MOR (Funato *et al.*, 2016). Es importante mencionar que, con base en estas investigaciones, se ha descrito que el sueño tiene su origen en especies animales muy antiguas cuyos sistemas nerviosos se clasifican como primitivos y es por ello que para continuar con la búsqueda tanto de los distintos mecanismos moleculares que subyacen al sueño, así como de las posibles funciones de éste, se hace uso de dos especies de invertebrados que son consideradas por excelencia como modelos genéticos para distintas áreas de estudio: la primera de ellas es la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* y la segunda la lombriz *Caenorhabditis elegans* (Miyazaki *et al.*, 2017).

Ésta evidencia indica que las vías moleculares están altamente conservadas en el fenómeno del sueño, y que además existe una gran similitud de los mecanismos tanto en los mamíferos como en los invertebrados.

### **1.3.1. *Drosophila melanogaster*: Sueño y memoria**

#### **1.3.1.1. *Drosophila melanogaster*: Generalidades**

*Drosophila melanogaster* conocida así en el ámbito científico, también recibe el nombre de mosca de la fruta o del vinagre, este insecto mide alrededor de 2 a 3 milímetros de longitud y pertenece al orden de los dípteros (insectos con un solo par de alas), y cuyo grupo engloba a todas las especies de moscas. *Drosophila melanogaster* es una especie con distribución cosmopolita, se puede encontrar en casi cualquier parte del planeta; esta especie se alimenta de la levadura que crece en la fruta madura o en descomposición (Petitpierre, 1997).

La mosca de la fruta como sujeto de estudio presenta múltiples ventajas, entre ellas un ciclo de vida corto, mantenimiento de bajo costo, elevada descendencia y fácil manipulación. Esta especie suele vivir aproximadamente 30 días (un mes) a una temperatura constante de 25°C y su ciclo biológico incluye una metamorfosis ontogénica completa: huevo, larva, pupa, imago y adulto. Las hembras a las pocas horas de haber eclosionado son sexualmente maduras por lo que comienzan a poner huevos a partir del segundo día. También se ha demostrado que algunos factores como la temperatura, la humedad y la iluminación modifican el desarrollo de esta especie (Petitpierre, 1997; Alvarado, 2000; Ashburner *et al.*, 2005).

Por otro lado, actualmente es uno de los organismos modelo más utilizados en la investigación básica, sobre todo en el campo de la genética y en la investigación biomédica (Alvarado, 2000; Díaz-González *et al.*, 2008). El genoma de la mosca de la fruta fue completamente secuenciado en el año 2000 y contiene 180 millones de pares de bases (Mb) que albergan alrededor de 13,6000 genes, muchos de ellos homólogos a genes humanos (Adams, 2000; Greenspan *et al.*, 2001), gracias a esto la mosca de la fruta se

perfiló como un modelo animal inferior viable para la genética clásica y moderna, pues es útil en el análisis y estudio de enfermedades humanas como el Alzheimer, Parkinson, cáncer, entre otras (Santalla et al., 2016).

### **1.3.1. Etapa de reposo (sueño) en *Drosophila melanogaster*.**

Los estudios en este invertebrado han aportado información valiosa al campo del sueño ya que distintos criterios que van desde conductuales, moleculares, farmacológicos hasta ontogénicos se han observado en esta especie durante la noche, muy similar a como ocurre en los mamíferos

La mosca de la fruta tiene un patrón conductual claramente establecido durante la etapa de reposo: 1) presenta un aumento en el umbral para responder a estímulos externos, 2) es una especie diurna y 3) muestra un periodo de inmovilidad prolongado durante la noche (Shaw *et al.*, 2000; Greenspan *et al.*, 2001) (Figura 2).

El periodo de reposo en *Drosophila* se caracteriza específicamente por periodos largos de inmovilidad, que puede ir de los 5 hasta los 157 minutos aproximadamente y este periodo al igual que en los humanos, es regulado tanto homeostática como circadianamente. Durante este periodo, a nivel molecular se han encontrado cambios de manera específica y de gran importancia puesto que se ha reportado una alta expresión de genes y proteínas que participan en la regulación del ritmo circadiano; *period*, *clock*, *cycle* y *PER* respectivamente (Hendrick *et al.*, 2000; Shaw *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2016). Por lo tanto, es claro que la activación y expresión de estos genes son dependientes del ciclo actividad-reposo y está altamente conservado en esta especie (Greenspan *et al.*, 2001; Cirelli, 2003; Cirelli, 2008).

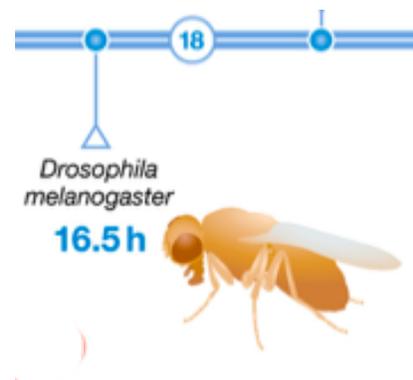


Figura 2. Horas de reposo de la mosca de la fruta.

### 2.3.1. Memoria

Las etapas que conforman el aprendizaje están claramente establecidas y son las siguientes: la adquisición, la consolidación y la recuperación de la información.

La última etapa, es el proceso por el cual la información consolidada puede evocarse cada vez que sea necesaria, a este proceso se le conoce como memoria y no es más que la capacidad de recuperar la información adquirida (Ortega *et al.*, 2010). Sin embargo, es importante destacar que los procesos de aprendizaje y memoria no pueden tratarse como rubros individuales ya que están estrechamente relacionados (Machado, 2008).

En *Drosophila melanogaster* estos procesos están firmemente establecidos, gracias al desarrollo tanto de pruebas conductuales, específicamente las olfativas y visuales, cómo de la identificación de los mecanismos moleculares y celulares. De este modo se ha logrado profundizar aún más en el análisis de los procesos de aprendizaje y memoria en esta especie (Purves, 2008).

Por otro lado, existen distintos métodos de condicionamiento en la mosca de la fruta, los cuales se pueden ser aplicados desde que se encuentra en estado larvario hasta la adultez, entre ellas destacan: la evitación o aversión olfativas, aprendizaje visual con simuladores de luz, condicionamiento olfativo apetitivo, orientación espacial, entre otras. Tales pruebas requieren de aparatos y mecanismos sofisticados. (Pitman 2009).

Actualmente se han identificado en la mosca de la fruta que las áreas involucradas en los procesos de aprendizaje olfativo y visual son los llamados: “cuerpo de hongo” y complejo central, respectivamente (Kahsai & Zars, 2011). Y de manera mas focalizada, la adquisición del aprendizaje olfativo queda establecida gracias a la participación de las neuronas gamma del “cuerpo de hongo”, mientras que la consolidación y memoria a largo plazo dependen de la activación de neuronas alfa y beta. Finalmente, las vías de transición que van de la adquisición a la expresión de la memoria aún se encuentran en investigación (Güven-Ozkan *et al.*, 2014). Sin embargo, Vogt y colaboradores (2014) sugieren que tanto el “cuerpo de hongo” como el complejo central, se activan y participan al mismo tiempo durante las pruebas que utilizan tanto, pistas olfativas como visuales.

### **3.3.1. Sueño: efectos sobre el aprendizaje y memoria en *Drosophila melanogaster***

Como se mencionó anteriormente, algunas investigaciones sugieren que el sueño participa en la consolidación de la memoria, pues se han observado importantes cambios en la plasticidad neuronal en aquellas regiones cerebrales encargadas de los procesos de la memoria (Abel *et al.*, 2013).

Por consiguiente, diversos estudios se han enfocado en elucidar el papel que juega el sueño en los procesos del aprendizaje y de la memoria; para lo cual se han realizado experimentos con *Drosophila melanogaster*, donde se ha observado que después de la privación de sueño, su desempeño en pruebas de memoria decrece significativamente (Li *et al.*, 2009; Seugnet *et al.*, 2009; Seugnet *et al.*, 2010).

Li y colaboradores (2009) reportaron que la pérdida de la etapa de reposo durante 24 horas continuas altera los procesos de memoria. Dicha alteración perdura hasta por las siguientes dos horas post-privación. Por otro lado, experimentos realizados en una cepa de *Drosophila* que presentaba hiperquinesia, mostró menos porcentaje de sueño y en consecuencia se observó un déficit significativo durante la fase de aprendizaje (Seugnet *et al.*, 2008) y finalmente, otro grupo de investigadores también reportó que cuando se privan de sueño a las moscas desde el primer día de adultez, posteriormente hay un déficit en la memoria a corto plazo (Seugnet *et al.*, 2010). De ese modo, se apoya nuevamente la idea de la relación estrecha que existe entre el sueño y los procesos de memoria y aprendizaje.

Otro de los efectos post-privación de sueño es que a la noche siguiente se presenta un efecto compensatorio de éste, muy similar a como ocurre en el humano, (Hendricks *et al.*, 2000; Cirelli, 2006; Ayala *et al.*, 2008). Además, el periodo de actividad-reposo en esta especie también puede ser modulado fácilmente por algunas sustancias farmacológicas tales como hipnóticos y/o estimulantes (Hendricks *et al.*, 2000; Shaw *et al.*, 2000; Cirelli, 2006). Queda claro que la cantidad de sueño y/o reposo es fundamental para las etapas que conforman el aprendizaje y el uso de la especie *Drosophila melanogaster* ha sido un modelo de excelencia para el estudio de la relación que existe entre el sueño y los procesos de aprendizaje.

## Capítulo II

### 2.1. Justificación

Como consecuencia de la privación de sueño, procesos como la adquisición y la consolidación de la información se alteran significativamente. Sin embargo, aún hay pocos reportes científicos que describan lo que ocurre con la memoria posterior al periodo de recuperación de sueño en la mosca de la fruta.

Por lo que, en el presente trabajo, proponemos el estudio del efecto de la recuperación de sueño sobre la memoria en *Drosophila melanogaster*. La información obtenida de este proyecto aportará nuevo conocimiento al campo de investigación enfocada a la filogenia del sueño y además establecer en un futuro correlaciones entre el sueño y su regulación genética.

### 2.1. Hipótesis y objetivos

#### 2.1.1. Hipótesis

Conocer si el proceso de memoria en *Drosophila* se restablece después de la recuperación de sueño.

#### 2.1.2. Objetivo general

Analizar el efecto de la recuperación de sueño por un periodo de 36 horas sobre la memoria de *Drosophila*.

#### 2.1.3. Objetivos específicos

- Evaluar como la recuperación de sueño modifica la tasa de aciertos y errores, así como el tiempo de llegada durante la prueba de localización de alimento.
- Describir el efecto de la recuperación de sueño sobre los aciertos, errores y latencia de una tarea de memoria en *Drosophila melanogaster*.

## Capítulo III

### 3.1. Materiales y Métodos

#### 3.1.1. Animales

Se utilizaron moscas de la cepa silvestre de la especie *Drosophila melanogaster*, proporcionadas por el Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Las moscas estuvieron a una temperatura constante de 25°C y en ciclo de luz-oscuridad de 12/12 horas, donde las luces se encendieron a las 8:00 am y se apagaron a las 8:00 pm. Se emplearon moscas adultas (de 1-5 días de edad) para el grupo control apareadas en edad y sexo con el grupo experimental, las cuales se seleccionaron de manera aleatoria. Tanto el grupo experimental como el grupo control aprendizaje contaron con una n=50 moscas; ambos grupos se sometieron a la prueba de localización de alimento basado en pistas visuales, una vez aprendida la tarea sólo el grupo experimental fue privado de sueño con ayuda del brazo móvil giratorio y al día siguiente se valoró su nivel de retención de la información de la tarea que previamente se aprendió. Posteriormente tuvieron un periodo de recuperación del sueño seguido nuevamente de la valoración del nivel de información aprendida.

#### 3.1.1. Reproducción de las moscas

El Banco de Moscas proporcionó moscas de más de 15 días de edad con alimento y larvas en un tubo tipo vial de plástico, por lo que las moscas se trasladaron a otro tubo con alimento con la finalidad de controlar la edad de las moscas que estaban por nacer en el primer tubo. Una vez que eclosionaron las nuevas moscas, se utilizaron como sujetos de experimentación. Las moscas se colocaron en tubos cónicos de 30 ml de largo de manera individual y se etiquetaron con un número asignado y el grupo al que pertenecían.

También se depositó dentro de cada tubo un poco de comida proporcionada y producida por el Banco de Moscas (Facultad de Ciencias, UNAM), la cual consiste en una combinación rica en azúcar, levadura y harina (Figura 3).

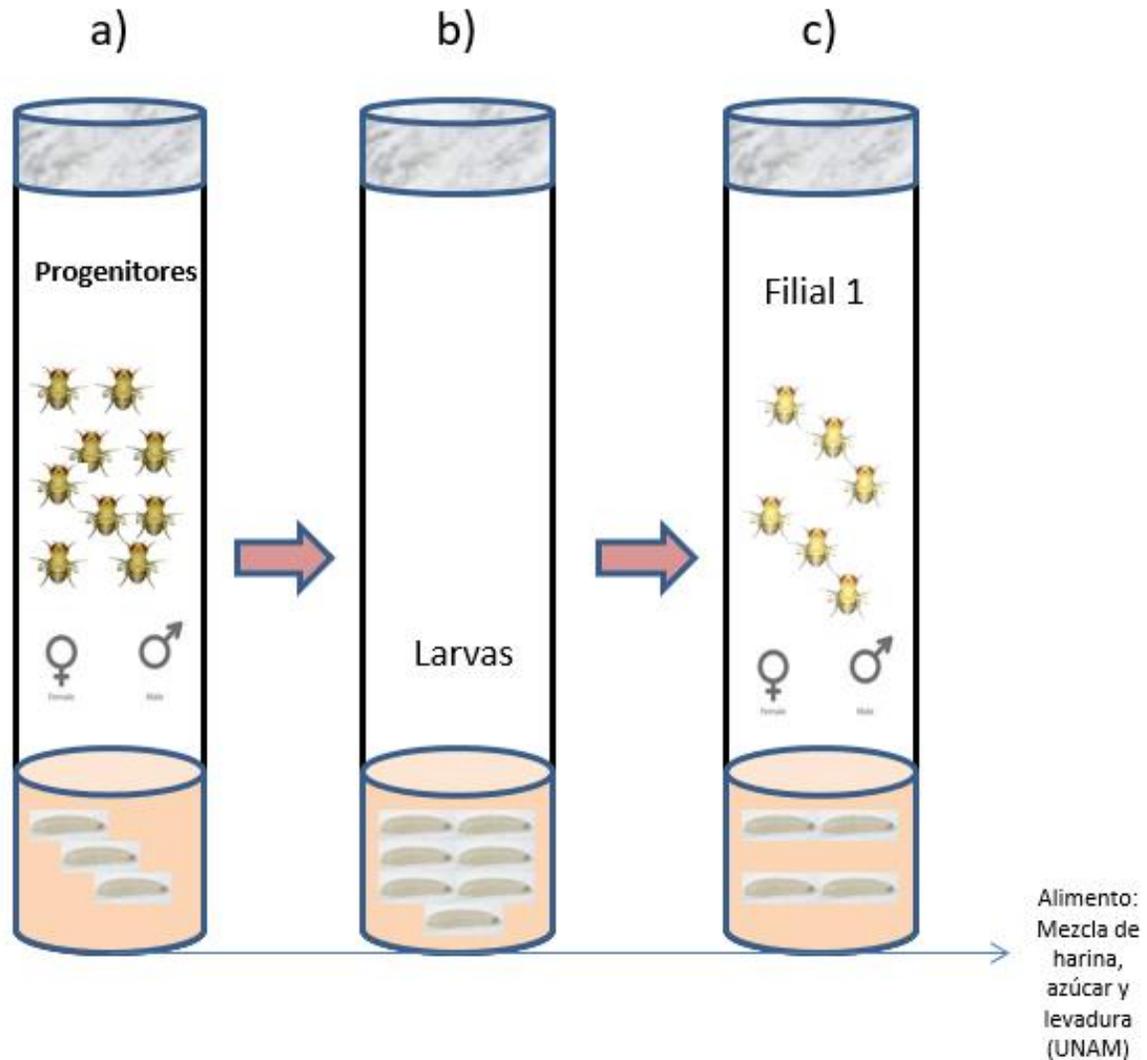


Figura 3. Contenedores de alojamiento y para reproducción de *Drosophila melanogaster*. A) Moscas adultas (hembras y machos) proporcionadas por el Banco de Moscas UNAM. B) Larvas de las moscas del tubo A, se incubaron con alimento y temperatura adecuada hasta que eclosionen. C) Filial 1 (F1) de las moscas del tubo A, se iniciará la fase experimental cuando las nuevas moscas tengan 6-7 días de edad.

### 3.1.2. Diseño de estudio

El tipo de estudio fue transversal, debido a que se realizó en una sola fase y tuvo un diseño de tipo experimental dado que se manipuló solo la variable independiente y posteriormente hubo una comparación de los resultados de la variable dependiente entre el grupo control y el grupo experimental (Diagrama 1).

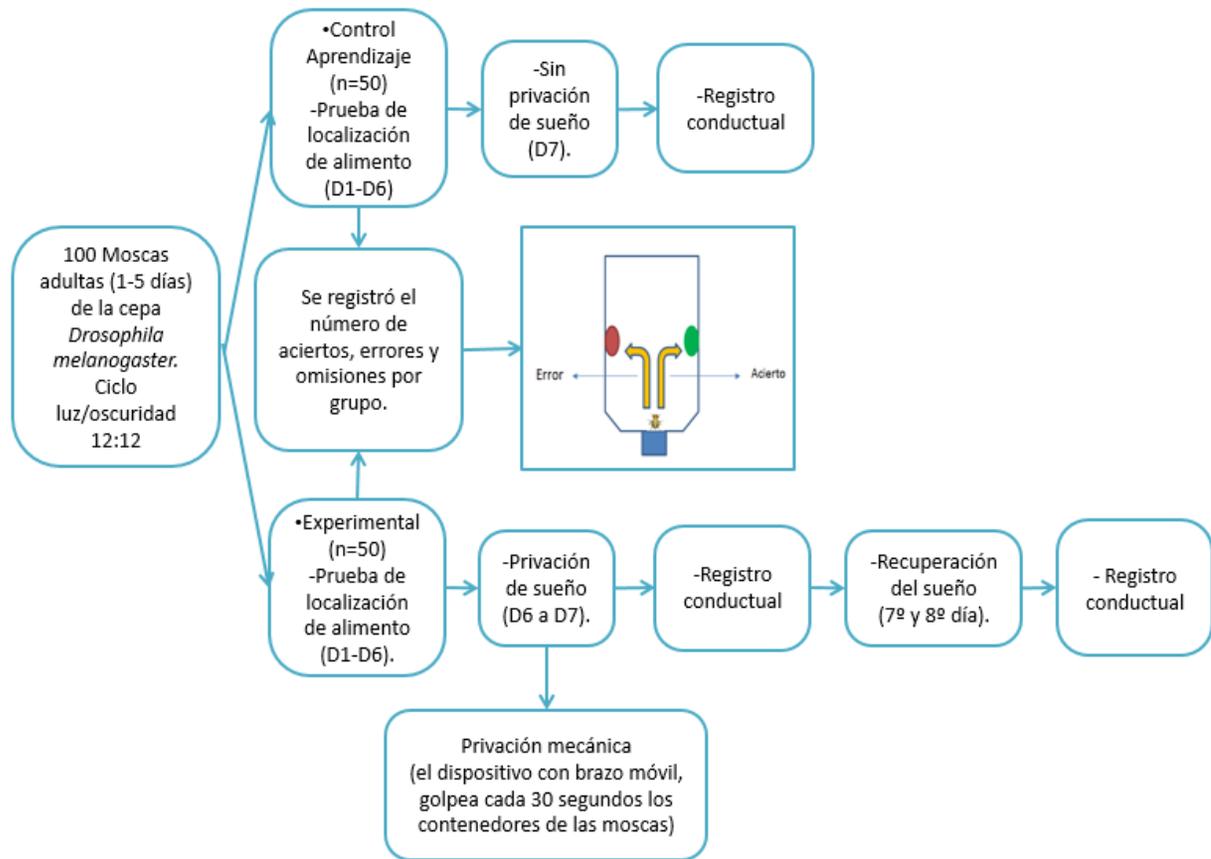


Diagrama 1. Diseño y método experimental del proyecto.

### **3.1.3. Variables**

Variable independiente: recuperación del sueño.

Variable dependiente: medidas de aprendizaje; aciertos, errores y latencia en una prueba de localización de alimento.

Definición conceptual y operacional de las variables.

Aprendizaje - Memoria:

- La mosca se dirigió al círculo de color verde con comida la mayoría de las veces durante los ensayos, entendiéndose como acierto; pero si llegó al círculo de color rojo, se contabilizó como error.
- La mosca tuvo que llegar al círculo verde en un tiempo menor a 5 minutos, si ejecutó la tarea de manera correcta se contó como acierto registrándose el tiempo de llegada con ayuda de un cronómetro, y se contó como error si llegó al círculo rojo, anotándose también el tiempo.

Recuperación de sueño:

- Después de la privación de sueño, las siguientes dos noches (36 horas), a las moscas se les permitió tener periodos de reposo normal durante las siguientes 36 horas, bajo condiciones de luz y temperatura controladas.
- En la noche del octavo y noveno día, posterior a la privación de sueño, las moscas se videograbaron y se observó un incremento compensatorio de la fase de reposo. El criterio de medición para el estado de reposo de las moscas fué permanecer inmóviles al menos durante 5 minutos o más.

### **3.1.4. Método de privación de sueño**

Las moscas del grupo experimental fueron sometidas a 6 horas de privación de sueño durante la segunda mitad de la noche por medio de un sistema mecánico de golpeteo, que resultó efectivo en experimentos previamente realizados (Cebberos *et al.* en prensa).

Este sistema se realizó con un brazo móvil giratorio que golpeó de manera automatizada (aprox. cada 30 segundos) una caja de cartón que contuvo en su interior los tubos cónicos con las moscas individuales.

Por consiguiente, cada vez que el brazo móvil golpeó la caja, impidió que la mosca adoptara una posición que le permita descansar y reposar, de ese modo se logró privar de sueño a la mosca (Figura 4).

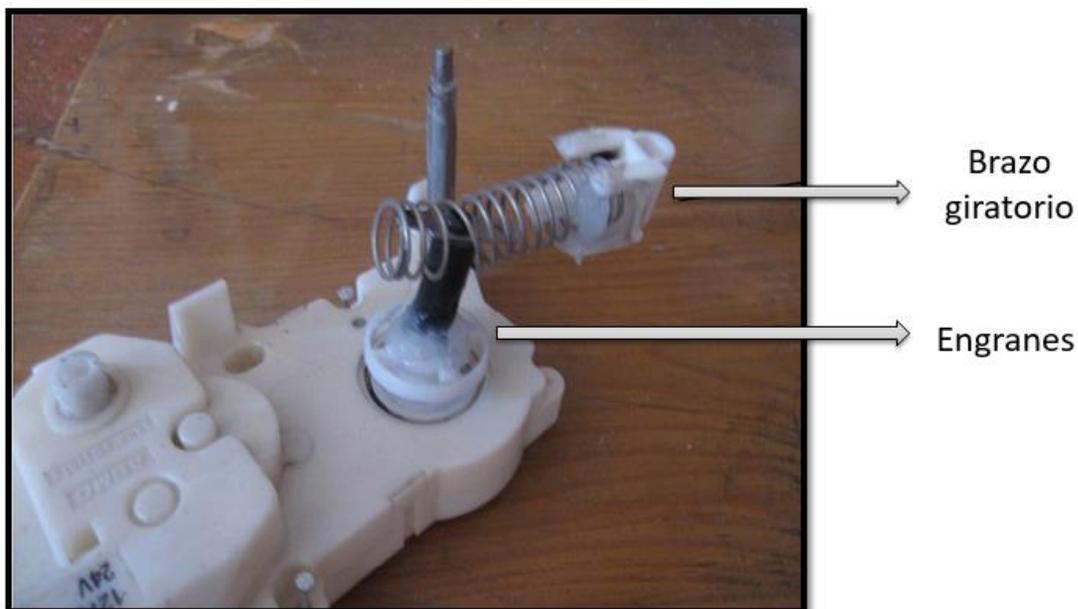


Figura 4. Dispositivo con brazo móvil giratorio utilizado para llevar a cabo la privación de sueño en la segunda mitad de la noche.

### 3.1.5. Recuperación de sueño

Una vez finalizada la privación de sueño, las moscas fueron sometidas a la prueba conductual descrita anteriormente, con el objetivo de medir la tasa de aciertos, errores y latencias. Al término de la prueba, fueron devueltas a sus contenedores de manera individual con alimento, desde ese momento comenzó la etapa de recuperación.

Durante el día se corroboró la presencia de un incremento compensatorio de reposo, la cual siguió durante el séptimo y octavo día con sus respectivas noches de sueño normal.

En la mañana del noveno día se llevó a cabo una última serie de ensayos para registrar el nivel de la tarea aprendida previamente.

### 3.1.6. Prueba de aprendizaje

#### 3.1.6.1. Escenario de la prueba

Se utilizó un recipiente de forma rectangular (frasco de cultivo celular de 25 cm<sup>2</sup>), en el cual se colocaron dos círculos de papel de 2 cm de diámetro, uno color rojo y otro color verde, en las paredes internas del recipiente y en posición opuesta. Estos círculos siempre estuvieron colocados en el mismo sitio para que las moscas se orientaran espacialmente y aprendieran a discriminar el color de éstos. Finalmente, el recipiente se forró con cinta adhesiva color gris y se dejó descubierta la parte superior para observar a las moscas durante los ensayos (Figura 5).

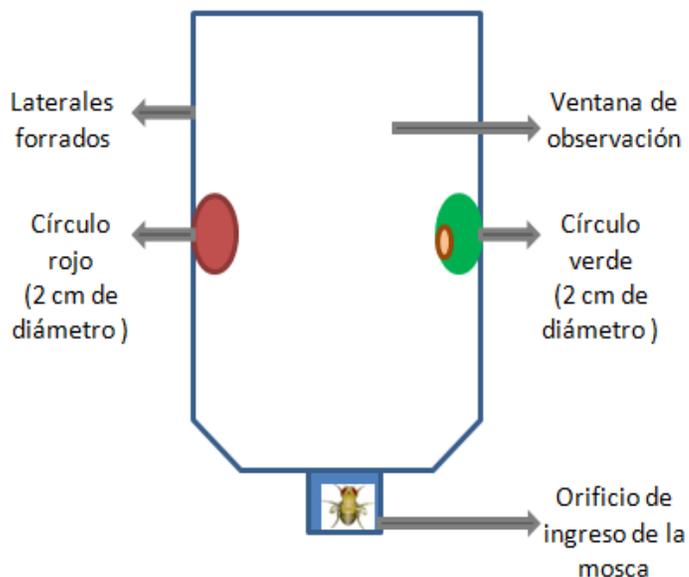


Figura 5. Caja de cultivo pequeña modificada para realizar los ensayos de localización de alimento.

### 3.1.6.2. Procedimiento de la prueba

Se utilizó a cada mosca de manera individual durante las sesiones experimentales a lo largo de 6 días. El principal motivador durante la prueba fue el alimento, y con el fin de generar hambre se le retiró el alimento a cada mosca 16 horas antes de cada ensayo de prueba de localización de alimento. Al finalizar el tiempo de restricción de alimento, se colocó un poco de comida sobre el círculo de color verde dentro del recipiente designado para la prueba. Dado que ambos círculos son de la misma forma y dimensión, el círculo de color rojo tiene como objetivo distraer y despistar a la mosca durante el ensayo.

Es importante recordar que éstos estuvieron colocados en las paredes del contenedor de manera opuesta uno del otro.

Una vez colocado el alimento, se procedió a colocar a la mosca en la entrada del recipiente para dar inicio al ensayo, e inmediatamente con un cronómetro se contabilizó y registró el tiempo que tarda la mosca en llegar a la comida que se encuentra en el círculo de color verde (latencia). Si llegó a este círculo se tomó como un acierto y se le permitió comer durante 10 segundos; y, por el contrario, si la mosca llegó por equivocación al círculo rojo, se contabilizó como error midiendo el tiempo requerido por la mosca para rectificar su error con la finalidad de que la mosca llegara a la comida y también pudiera alimentarse durante 10 segundos. Si la mosca no llegó al círculo verde o al rojo en un tiempo de 5 minutos, se registró como una omisión y se finalizó el ensayo.

Los ensayos de esta prueba se realizaron siempre a la misma hora y bajo las mismas condiciones; además, cada mosca realizó cuatro ensayos continuos por día. Ambos grupos (experimental y control aprendizaje) realizaron esta prueba durante 6 días consecutivos, con la única diferencia de que el grupo experimental se sometió a la privación de sueño en la noche del sexto día, y después de la recuperación de sueño, al noveno día se realizó nuevamente la prueba (Figura 6).

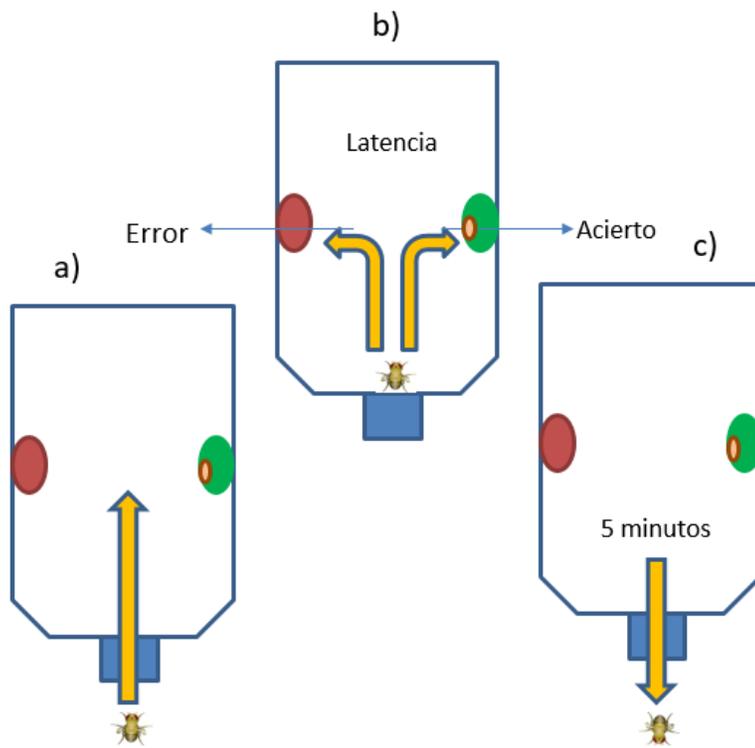


Figura 6. Diagrama y escenario de latencia en la prueba de localización de alimento.

A) Con el ingreso de la mosca al contenedor se da inicio a la prueba. B) Si la mosca en un tiempo de 5 min elige círculo de color rojo es error o si elige el de color verde es acierto.

C) Finalizados los 5 minutos se retira a la mosca del contenedor y termina la prueba.

### 3.2. Análisis estadístico

Los datos de las latencias se analizaron usando la prueba t de "Student" para muestras relacionadas con el fin de analizar las diferencias significativas presentes en cada grupo, tanto en el experimental, como en el grupo control aprendizaje. Mientras que, para el análisis de los aciertos, errores y omisiones de ambos grupos, se utilizó la prueba de Chi-cuadrada. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a un valor de  $p < 0.05$ .

# Capítulo IV

## 4.1. Resultados

### 4.1.1. Análisis e interpretación de los datos

Para realizar el análisis de los datos se tomaron sólo los valores del primer ensayo de los cuatro que se realizaron durante cada día de experimentación, tanto para la latencia al círculo verde, como para los aciertos y errores en ambos grupos, control y experimental. Se tomó esta consideración debido a que sólo en el primer ensayo se observó una alta motivación en las moscas, conforme transcurren los ensayos, ésta disminuye notablemente (Figura 7) (Figura 8).

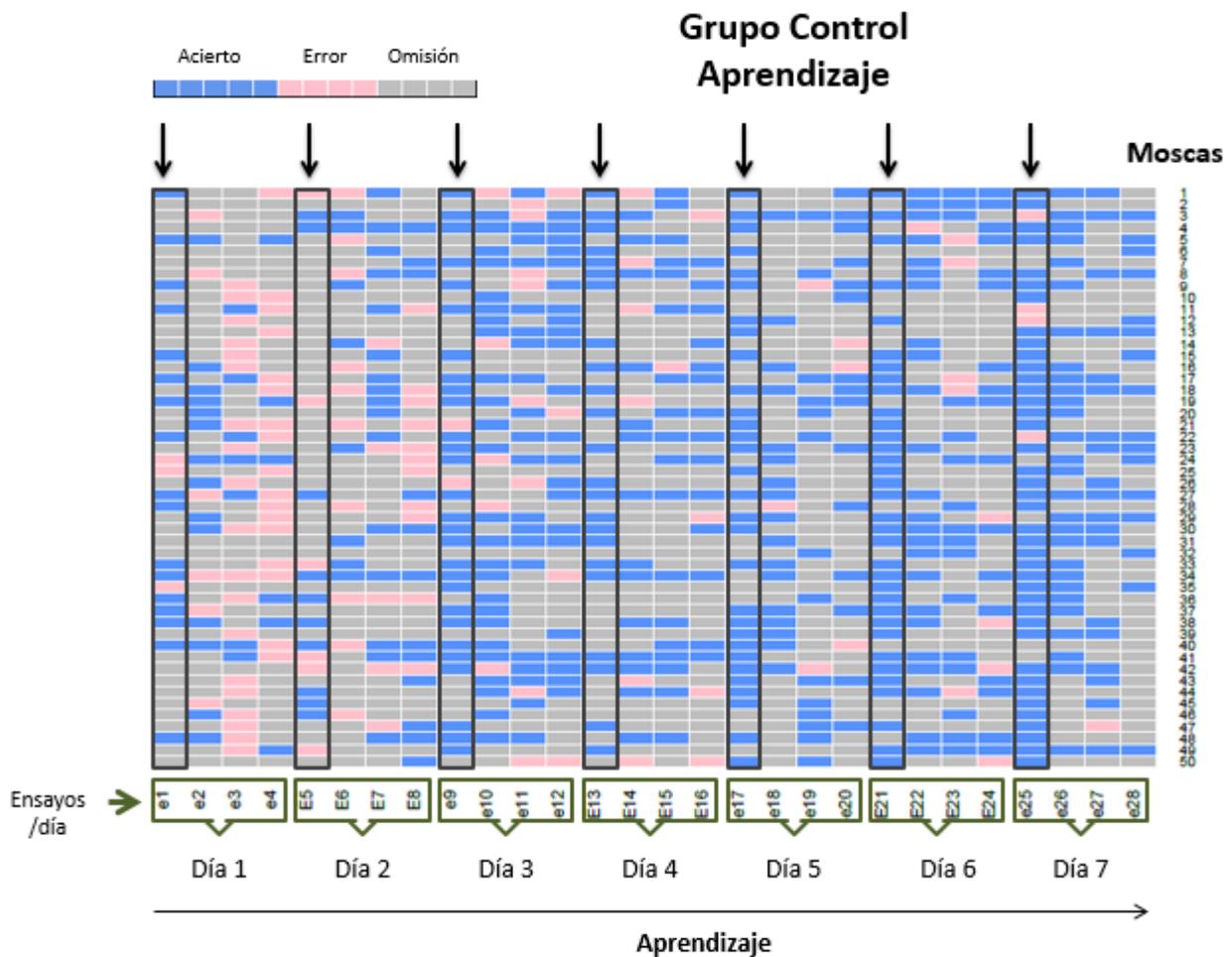


Figura 7. Histograma que muestra el decremento de la motivación (rectángulo de color azul o acierto) de la mosca a lo largo de los ensayos realizados por día durante los seis días de prueba de localización de alimento (aprendizaje) en el grupo control - aprendizaje.

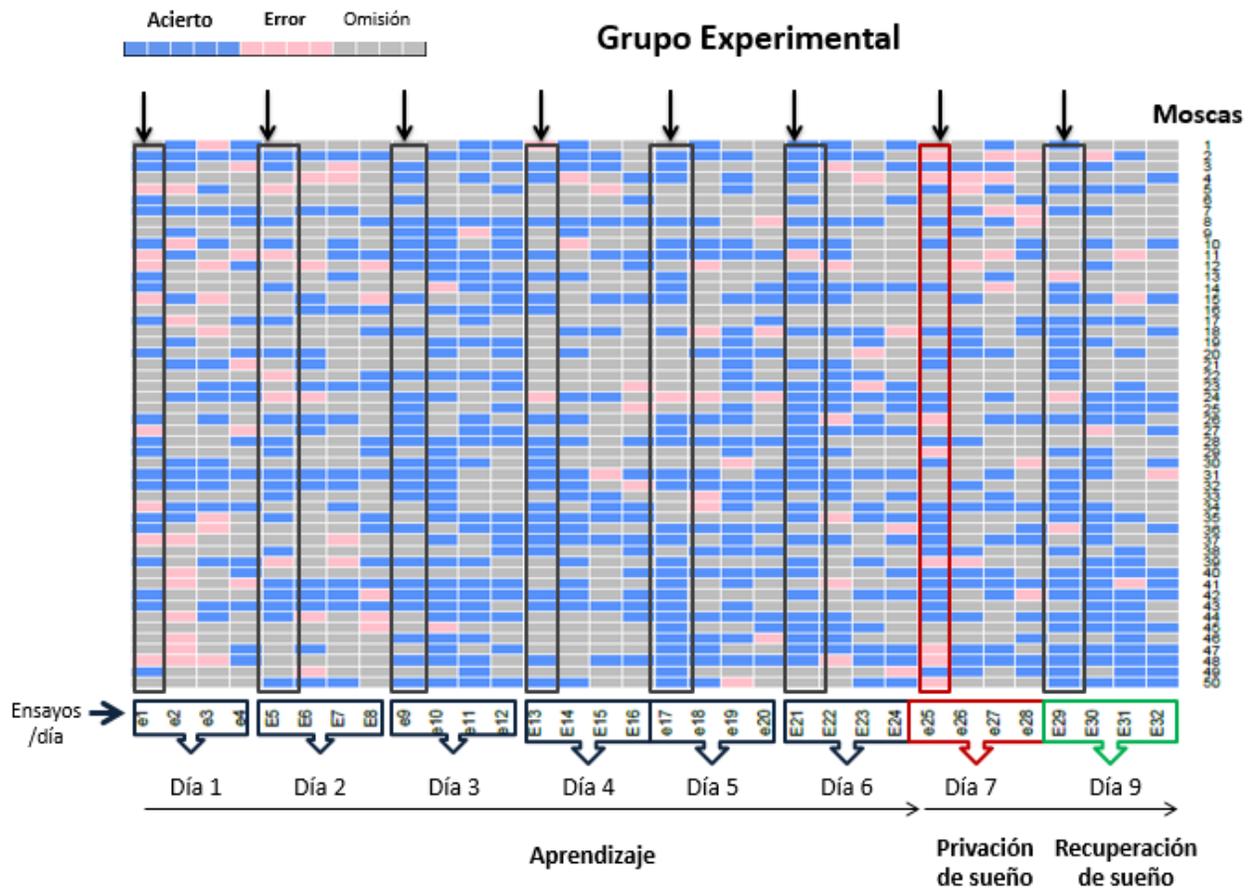
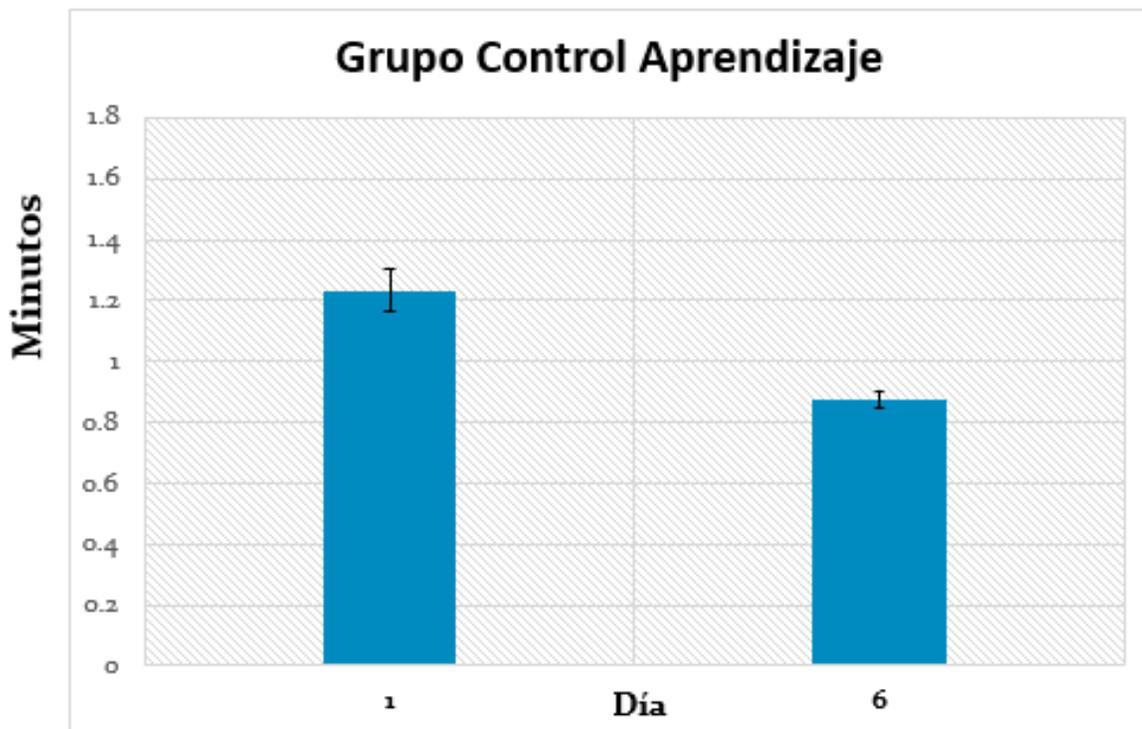


Figura 8. Histograma que muestra el decremento de la motivación (rectángulo de color azul o acierto) de la mosca a lo largo de los ensayos realizados por día durante los seis días del aprendizaje, después de la privación y de la recuperación de sueño en la prueba de localización de alimento en el grupo control aprendizaje.

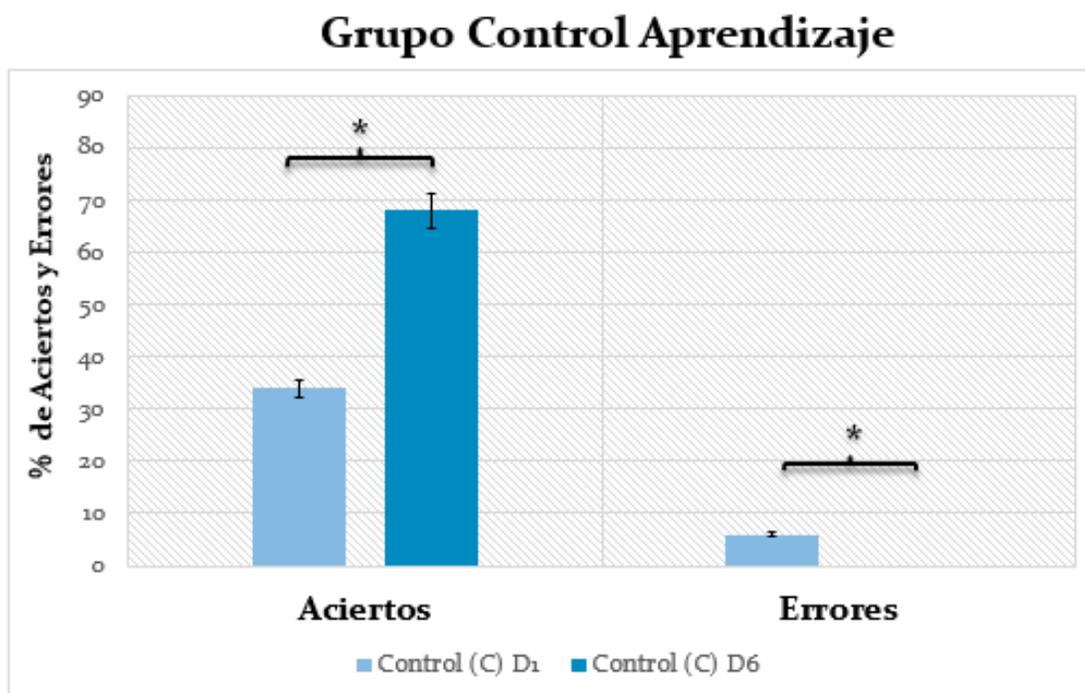
#### 4.1.2. Adquisición y consolidación del aprendizaje

Transcurridos seis días de aprendizaje se observó que la latencia de llegada al círculo verde disminuyó (0.34 seg) indicando consolidación de la información durante los días de ensayo (d1:  $1.23 \pm 0.11$  min; d6:  $0.89 \pm 0.01$  min). Existe una tendencia a la disminución en el tiempo de llegada al círculo verde, sin embargo, la diferencia entre el primer y sexto día no fue significativamente diferente en el grupo control aprendizaje (t-student pareada,  $p=0.093$ ) (Gráfica 1).



Gráfica 1. Comparación en el tiempo de las latencias del día uno y día seis. Se muestra el decremento en el tiempo de llegada al círculo verde durante la prueba de localización de alimento después de una semana de entrenamiento.

Por otro lado, se observó un incremento y una disminución significativa en el número de aciertos y errores respectivamente entre el primer y sexto día de aprendizaje (Chi Cuadrada,  $p=0.000$ ) (Gráfica 2).



Gráfica 2. Porcentaje de aciertos y errores en el primer y sexto día. En la gráfica se observa un bajo número de aciertos en el primer día, así como un alto porcentaje de errores, en contraste en el sexto día después una semana de entrenamiento en la prueba de localización de alimento el número de aciertos se incrementa y los errores disminuyen. Es de notar que el cambio es significativo en dichas comparaciones ( $p \leq 0.001$ ).

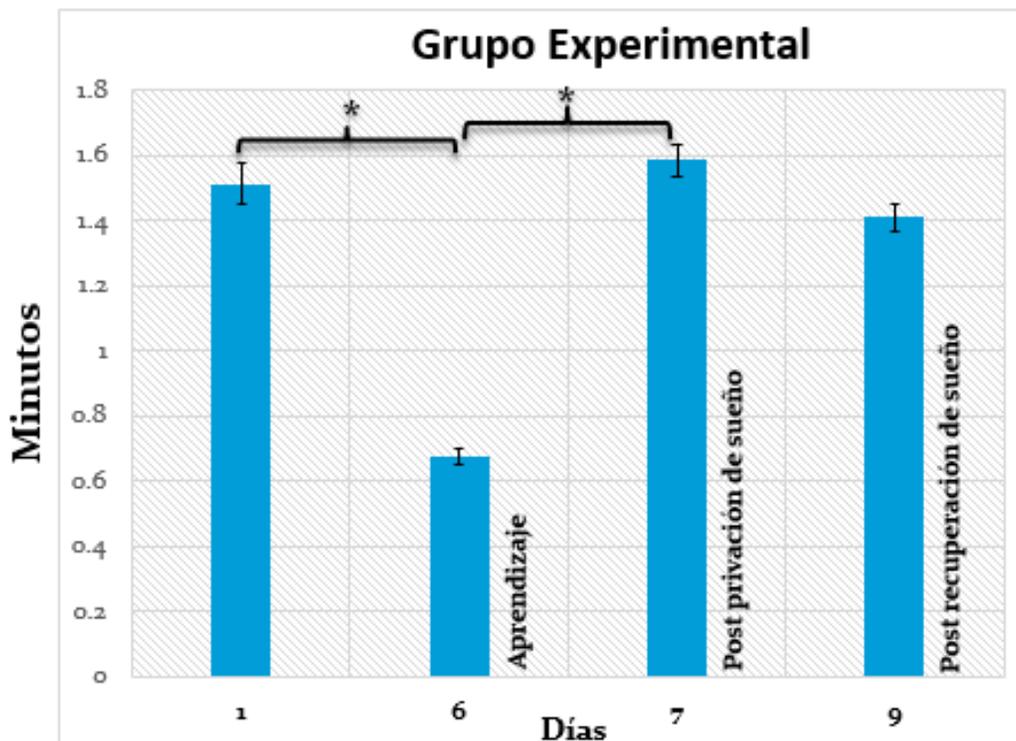
#### 4.1.3. Efectos de la privación y recuperación de sueño sobre el aprendizaje

Los tiempos de llegada del grupo experimental al círculo verde disminuyeron significativamente al comparar el primer y el sexto día ( $d_1: 1.51 \pm 0.27$  min;  $d_6: 0.67 \pm 0.08$  min; t-student pareada,  $p=0.016$ ) indicando que hubo adquisición y consolidación del aprendizaje, similar a lo observado en el grupo control-aprendizaje.

Posterior a la consolidación del aprendizaje, entre el sexto y séptimo día se llevó a cabo la privación de sueño para determinar su efecto sobre el aprendizaje. Se analizaron las latencias del sexto y el séptimo día, antes y después de la privación de sueño respectivamente. Los resultados arrojaron un incremento significativo en la latencia de llegada al círculo verde ( $d_6: 0.67 \pm 0.08$  min;  $d_7: 1.58 \pm 0.37$  min; t-student pareada,  $p=0.0007$ ) lo que sugiere un déficit en la memoria.

Para determinar el efecto de la recuperación de sueño se dejó dormir a las moscas del grupo experimental las noches del séptimo y octavo día de experimentación.

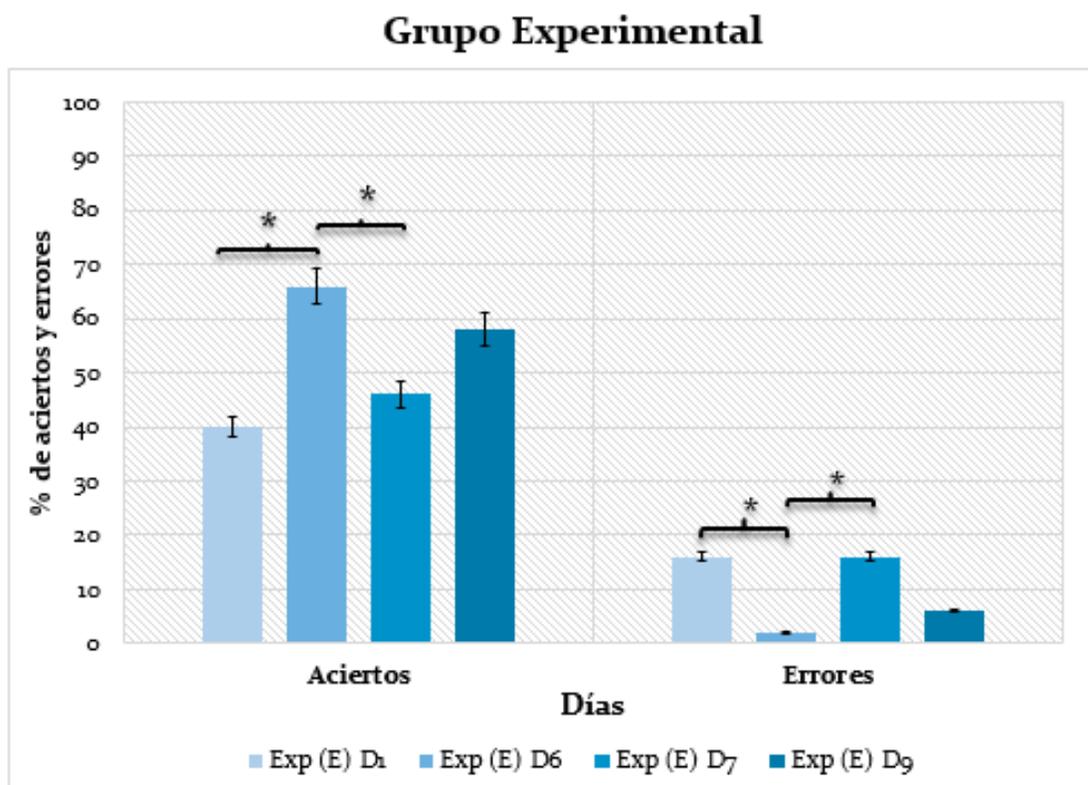
Posteriormente, en el noveno día nuevamente se llevó a cabo el registro de las latencias, éstos nuevos datos se compararon con los tiempos del séptimo día (privación de sueño), se observó una tendencia al decremento en el tiempo de llegada de la mosca al círculo verde, sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $d_7: 1.58 \pm 0.37$  min;  $d_9: 1.40 \pm 0.17$  min; t-student pareada,  $p=0.278$ ). Este resultado sugiere que la memoria (recuperación de la información) se altera y se evoca parcialmente. (Gráfica 3).



Gráfica 3. Comparación de las latencias durante la prueba de localización del círculo verde del día uno y seis (aprendizaje), día siete después de la privación y del día nueve después de la recuperación del sueño. En la gráfica se observa que después de una semana de entrenamiento, del primer al sexto día, el tiempo de llegada al círculo verde decrece de manera significativa ( $p=0.016$ ). Mientras que en el día nueve, después de la privación de sueño el tiempo se incrementa significativamente en comparación con el día seis ( $p=0.0007$ ). Finalmente, tras dos noches de recuperación de sueño, el tiempo de llegada al círculo verde en el día nueve disminuye ligeramente ( $p=0.278$ ).

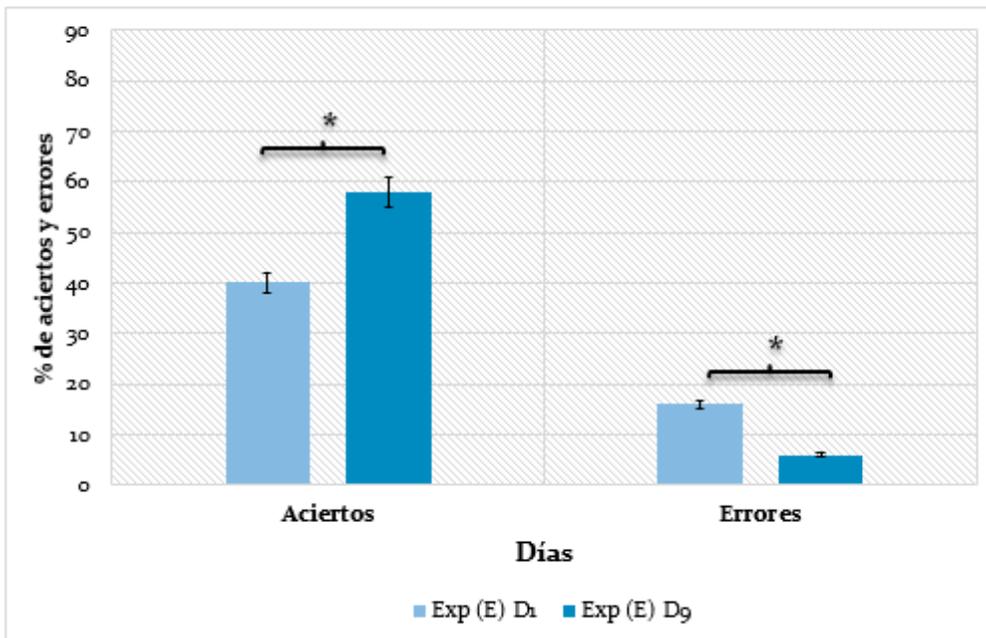
Así mismo, después del entrenamiento en la prueba de localización de alimento, se observó un incremento en el número de aciertos y una disminución en el número de errores entre el primer y sexto día de experimentación, estas diferencias fueron estadísticamente significativas (Chi Cuadrada,  $p=0.000$ ). Posteriormente tras la privación de sueño (día siete) el número de aciertos decreció significativamente y en contraste, la cantidad de errores aumentaron (Chi Cuadrada,  $p=0.000$ ) lo que sugiere déficit en la

consolidación del aprendizaje. Finalmente, tras la fase de recuperación de sueño (día nueve), hubo un incremento en el número de aciertos y disminuyó el número de errores, aunque sin llegar a una total recuperación, no hubo diferencias significativas (Chi Cuadrada,  $p=0.093$ ) (Gráfica 4).



Gráfica 4. Porcentaje de aciertos y errores antes de la privación, post privación y después de la recuperación de sueño. En la gráfica se observa que después una semana de entrenamiento en la prueba de localización de alimento hay un incremento en el número de aciertos, así como un decremento en el número de errores al sexto día en comparación con el día uno ( $p=0.0003$ ). Es de notar que después de la privación de sueño hubo un cambio significativo en la tasa de aciertos y errores, observándose un decremento y un aumento respectivamente ( $p=0.00000000037$ ). Mientras que, para el noveno día, post recuperación de sueño, la tasa de aciertos se observa un ligero incremento sin llegar a ser estadísticamente significativo ( $p=0.093$ ).

### Grupo Experimental / Comparación d1-d9 Memoria



Gráfica 5. Comparación de aciertos y errores entre el día uno y nueve. Se muestra el incremento entre el número de aciertos y el decremento en el número de errores al día uno y post recuperación del sueño (día 9). Es de notar que las diferencias son significativas ( $p=0.19$ ) lo que sugiere que la memoria prevalece sin afectación.

# Capítulo V

## 5.1. Discusión

Investigaciones en modelos animales y en humanos han demostrado que un adecuado periodo de sueño permite que se lleven a cabo funciones importantes para el organismo, por ejemplo, ayuda a la restauración cerebral, al buen funcionamiento de varios sistemas como el inmunológico y el endócrino, así como a la regulación de procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria (Everson et al., 1989; Purves, 2008).

Con base en las variables que se consideraron durante los ensayos: latencia, aciertos y errores, se logró describir nuevamente el aprendizaje y memoria en la mosca de la fruta. De acuerdo con los objetivos del presente trabajo, a lo largo de los ensayos las moscas mostraron una disminución en la latencia de llegada al alimento (círculo verde) así como un aumento y un decremento en la tasa de aciertos y de errores respectivamente. Durante la prueba de aprendizaje las moscas localizaron el círculo verde (pista visual) con ayuda tanto de información olfativa (comida) como de pistas espaciales ubicadas en el entorno durante las pruebas experimentales. Las moscas consolidaron de manera importante la información puesto que se combinaron dos métodos importantes de condicionamiento en *Drosophila* (Pitman et al., 2009), para lograr un mejor desempeño y por ende una mejor consolidación de la información durante las sesiones experimentales, durante esta fase la retroalimentación visual es un punto clave debido a que se ha descrito que la mosca de la fruta la utiliza de manera importante durante la búsqueda de alimento en condiciones normales (Frye et al., 2003).

En este estudio corroboramos que la privación de sueño en *Drosophila melanogaster* posterior a un periodo de aprendizaje, tiene como consecuencia un déficit en la consolidación de la información lo cual coincide con lo reportado anteriormente en los trabajos de Li y colaboradores (2009) y Seugnet y colaboradores (2009, 2010).

El segundo objetivo fue evaluar el efecto de la recuperación de sueño sobre las variables antes mencionadas (latencia, aciertos y errores) en la memoria al noveno día. La latencia de tiempo de llegada al alimento tiende a disminuir sin ser significativamente diferente, en comparación con el día seis antes de la privación de sueño. Por otro lado, se observó un ligero aumento en la tasa de aciertos, mientras que la tasa de errores disminuye, ambos cambios no muestran una diferencia estadísticamente significativa (tendencia). Con ello demostramos que después de un periodo de 24 horas de recuperación de sueño, la memoria se restablece parcialmente, lo cual es similar a lo reportado por otros grupos de investigación, Li y colaboradores en el 2009 mencionan que después de un día completo de privación de sueño, la memoria se restaura posterior a un periodo de cuatro horas de recuperación de sueño, permaneciendo así sin cambios incluso hasta después de 7 horas post privación de sueño. Así mismo observamos un decremento en la actividad nocturna de la mosca, hecho conocido como efecto compensatorio de sueño, estos datos concuerdan con lo reportado por otros autores (Hendricks *et al.*, 2000; Cirelli, 2006; Ayala *et al.*, 2008).

Las áreas involucradas del procesamiento de la información visual y la olfativa son el complejo central y el cuerpo de hongo respectivamente, este último tiene la capacidad de procesar ambos tipos de información (Vogt *et al.*, 2014).

En conclusión, nuestros datos indican que la privación de sueño altera de manera negativa el proceso de aprendizaje, posiblemente debido a cambios en las áreas en las que se lleva a cabo la consolidación de la información. Por otra parte, la recuperación de sueño favorece parcialmente la recuperación de la información (memoria) en *Drosophila melanogaster*. Queda claro que las alteraciones antes mencionadas sobre el aprendizaje y memoria son totalmente dependientes del tiempo y cantidad de la restricción de sueño que se llevó a cabo en esta investigación basándonos en la evidencia de que la privación de sueño conlleva efectos negativos en el organismo dependiendo de la cantidad y duración de ésta (Kleitman, 1963; Everson, 1995; Velázquez Moctezuma *et al.*, 1996;

Roman *et al.*, 2005; Guzmán Marín *et al.*, 2003, 2005, 2007; Havekes *et al.*, 2012 y Gast *et al.*, 2012).

Aun con esta información, se requiere contunuar investigando aquellas vías que pudieran estar siendo modificadas por el efecto de la privación y/o restricción de sueño y en consecuencia alterar procesos tan importantes y complejos como lo son el aprendizaje y la memoria en *Drosophila melanogaster*.

## 5.2. Conclusiones

- La mosca de la fruta es capaz de adquirir nueva información durante los primeros tres días de ensayo en la prueba de localización de alimento.
- La consolidación de la información ocurre después de seis días consecutivos de entrenamiento visual y olfativo.
- El efecto sobre el aprendizaje y memoria es dependiente de la cantidad y duración de la privación de sueño.
- Después de un periodo de seis horas de privación de sueño durante la segunda mitad de la noche, se observa un decremento significativo en el aprendizaje de la mosca de la fruta en la prueba de localización de alimento.
- La memoria de la mosca de la fruta se reestablece parcialmente después de un periodo de 24 horas de recuperación de sueño.
- La tasa de aciertos y errores post recuperación de sueño se observan favorables y con diferencias significativas en comparación con el día uno.
- El periodo de reposo de *Drosophila melanogaster* es vital para la correcta formación, almacenamiento y evocación de la información en los procesos de aprendizaje y memoria.

### 5.3. Perspectivas

- Determinar si el impacto de la privación y recuperación de sueño está influenciado por el sexo de la mosca.
- Estudiar el impacto de la privación de sueño por dos noches consecutivas sobre el aprendizaje y memoria en la mosca de la fruta.
- Determinar si el efecto de la privación de sueño sobre el aprendizaje y memoria es debido a la edad de la mosca de la fruta o por la privación de sueño *per se*.
- Registrar si la recuperación de sueño se lleva a cabo también durante el periodo de luz.
- Determinar si el efecto de la recuperación de sueño se muestra influenciado por la edad de las moscas.

## 6. Referencias

1. Abel, T., Havekes, R., Saletin, J. M., Walker, M. P. (2013). Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks. *Curr Biol.* 23(17). 774-788.
2. Ayala-Guerrero, F., Huitron-Resendiz, S. (1991). Sleep patterns in the lizard *Ctenosaura pectinata*. *Physiol. Behav.* 49, 1305-1307.
3. Ayala-Guerrero, F., Mexicano, G., Guevara, U. (2007). Hipótesis de las funciones del sueño. En *Trastornos del sueño*. Corinter: México. pp. 262-278.
4. Ayala, F., Mexicano, G. (2008). Filogenia del sueño: de invertebrados a vertebrados. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 8(1), 39-45.
5. Ayala, F., Mexicano, G., Rocha, C.R. (2015) Efeito da dor sobre el sono. Sao Paulo, Brasil. Editorial Terracota.
6. Berry RB., Brooks R., Gamaldo CE., Harding SM., Lloyd RM., Marcus CL., Vaughn BV. (2015). The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications, Version 2.2. [www.aasmnet.org](http://www.aasmnet.org). Darien, Illinois: American Academy of Sleep Medicine.
7. Blanco Centurión, A. (2008). Introducción al estudio del ciclo vigilia-sueño. *Rev Med UV*, 8(1), 6-18.
8. Carlson, N. (2006). *Fisiología de la conducta*. Madrid: Pearson.
9. Cebreros R., Ayala F., Resendis L. Privación de sueño y aprendizaje en la “mosquita de la fruta” (*Drosophila melanogaster*). En: Rosales A., Díaz J. & Jiménez A. (2016). La naturaleza de los sueños. *Cerebro, mente y cultura*. Ed. Herder. Pags.: 171-187.
10. Cervantes-Sandoval, I., Martin-Peña, A., Berry, J. A., & Davis, R. L. (2013). System-like consolidation of olfactory memories in *Drosophila*. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(23), 9846–9854. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0451-13.2013>

11. Cirelli, C. (2006). Sleep disruption, oxidative stress, and aging: new insights from fruit flies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103(38), 13901-13902.
12. Cirelli, C., Bushey, D. (2008). Sleep and wakefulness in *Drosophila melanogaster*. *Annals of de New York Academy of Sciences*, 1129, 323-329.
13. Cirelli, C., Bushey, D. (2008). Sleep and wakefulness in *Drosophila melanogaster*. *Ann N Y Acad Sci*. 1229, 323-329.
14. Cirelli, C. (2013). Sleep and synaptic changes. *Curr Opin Neurobiol*. 23(5), 841-846.
15. Davidson, J. R., Moldofsky, H., Lue, F. A. (1991). Growth hormone and cortisol secretion in relation to sleep and wakefulness. *J Psychiatry Neurosci*. 16(2). 96-102.
16. Davis, R. L. (2011). Traces of *Drosophila* Memory. *Neuron*, 70(1), 8–19. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.03.012>
17. Flanigan, W. F., Jr. Wilcox, R. H., Rechtschaffen, A. (1973). The EEG and behavioral continuum of the crocodilian, *Caiman sclerops*. *Electroencephalogr Clin Neurophysiology*. 34(5), 521-538.
18. Funato, H., Miyoshi, C., Fujiyama, T., Kanda, T., Sato, M., Wang, Z., Ma, J., Nakane, S., Tomita, J., Ikkyu, A., Kakizaki, M., Hotta-Hirashima, N., Kanno, S., Komiya, H., Asano, F., Honda, T., Kim, S. J., Harano, K., Muramoto, H., Yonezawa, T., ... Yanagisawa, M. (2016). Forward-genetics analysis of sleep in randomly mutagenized mice. *Nature*, 539(7629), 378–383. <https://doi.org/10.1038/nature20142>
19. Franco-Pérez, J., Ballesteros-Zebadúa, P., Custodio, V. y Paz, C. (2012). Principales neurotransmisores del ciclo sueño-vigilia. *Revista de Investigación Clínica*. 64 (2), 182-191.

20. Gast, H., Muller, A., Lopez, M., Meier, D., Huber, R., Dechent, F., . . . Fontana, A. (2013). CD40 activation induces NREM sleep and modulates genes associated with sleep homeostasis. *Brain Behav Immun*, 27(1), 133-144. doi: 10.1016/j.bbi.2012.10.004
21. Gomez-Gonzalez, B., Dominguez-Salazar, E., Hurtado-Alvarado, G., Esqueda-Leon, E., Santana-Miranda, R., Rojas-Zamorano, J. A., & Velazquez-Moctezuma, J. (2012). Role of sleep in the regulation of the immune system and the pituitary hormones. *Ann N Y Acad Sci*, 1261, 97-106. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012. 06616.x
22. Gomez-Gonzalez, B., Hurtado-Alvarado, G., Esqueda-Leon, E., Santana-Miranda, R., Rojas-Zamorano, J. A., & Velazquez-Moctezuma, J. (2013). REM sleep loss and recovery regulates blood-brain barrier function. *Curr Neurovasc Res*, 10(3), 197-207.
23. Guzman-Marin, R., Bashir, T., Suntsova, N., Szymusiak, R. & McGinty, D. (2003). Sleep deprivation reduces proliferation of cells in the dentate gyrus of the hippocampus in rats. *J Physiol*. 549 (2), 563-571.
24. Guzman-Marin, R., Suntsova, Na., Methippara, M., Greiffenstein, R., Szymusiak, R. & McGinty, D. (2005). Sleep deprivation suppresses neurogenesis in the adult hippocampus of rats. *Eur J Neurosci*. 22, 2111-6.
25. Guzman-Marin, R., Bashir, T., Suntsova, N., Szymusiak, R. & McGinty, D. (2007). Hippocampal neurogenesis is reduced by sleep fragmentation in the adult rat. *Neuroscience*. 148, 325-33.
26. Hendricks, J., Finn, S., Panckeri, K., Chavkin, J., Williams, J., Sehgal, A., Pack, A. (2000). Rest in *Drosophila* is a sleep –like state. *Neuron*, 25, 129-138.
27. Hobson, J. A. (1967). Electrographic correlates of behavior in the frog with special reference to sleep. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 22(2), 113-121.

28. Hurtado-Alvarado, G., Pavon, L., Castillo-Garcia, S. A., Hernandez, M. E., Dominguez-Salazar, E., Velazquez-Moctezuma, J., & Gomez-Gonzalez, B. (2013). Sleep Loss as a Factor to Induce Cellular and Molecular Inflammatory Variations. *Clinical & Developmental Immunology*. doi: Artn 801341 10.1155/2013/801341.
29. Kahsai L., Zars T. (2011). Learning and memory in Drosophila: behavior, genetics, and neuronal systems. *International Review of Neurobiology*. (99):139-167. doi:10.1016/B978-0-12-387003-2.00006-9.
30. Krueger, J. M., Frank, M. G., Wisor, J. P., & Roy, S. (2016). Sleep function: Toward elucidating an enigma. *Sleep medicine reviews*, 28, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2015.08.005>.
31. Kottler, B., & van Swinderen, B. (2014). Taking a new look at how flies learn. *eLife*, 3, e03978. <http://doi.org/10.7554/eLife.03978>.
32. Leung, L. C., Wang, G. X., Madelaine, R., Skariah, G., Kawakami, K., Deisseroth, K., Urban, A. E., & Mourrain, P. (2019). Neural signatures of sleep in zebrafish. *Nature*, 571(7764), 198–204. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1336-7>.
33. Libourel, P. A., & Herrel, A. (2016). Sleep in amphibians and reptiles: a review and a preliminary analysis of evolutionary patterns. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 91(3), 833–866. <https://doi.org/10.1111/brv.12197>
34. Li, W., Pan, Y., Wang, Z., Gong, Z. (2009). Morphological characterization of single fan-shaped body neurons in *Drosophila melanogaster*. *Cell Tissue Research*, 336 (83), 509-519.
- 24 Li, X., Yu, F., Guo, A. (2009). Sleep deprivation specifically impairs short-term olfactory memory in *Drosophila*. *Sleep*, 32 (11), 1417-1424.

- 25 Liu, S., Liu, Q., Tabuchi, M., & Wu, M. N. (2016). Sleep Drive Is Encoded by Neural Plastic Changes in a Dedicated Circuit. *Cell*, 165(6), 1347–1360. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.013>
- 26 Machado S., Portella C., Silvia J., Velásquez B., et al. (2008). Aprendizaje y memoria implícita: mecanismos y neuroplasticidad. *Rev Neurol*. 46 (9): 543-549.
- 27 Mirescu, C., Peters, J., Noiman, L. & Gould, E. (2006). Sleep deprivation inhibits adult neurogenesis in the hippocampus by elevating glucocorticoids. *PNAS*. 103 (50), 19170-19175.
- 28 Miyazaki, S., Liu, C. Y., & Hayashi, Y. (2017). Sleep in vertebrate and invertebrate animals, and insights into the function and evolution of sleep. *Neuroscience research*, 118, 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2017.04.017>
- 29 Morgado I. (2005). Psicobiología del aprendizaje y la memoria. *Rev Neurol*. 40:289-97.
- 30 Muller, A., Pollock, M., Lieblich, S., Epp, J., Galea, L. & Mistlberger, R. (2008). Sleep deprivation can inhibit adult hippocampal neurogenesis independent of adrenal stress hormones. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 294, R1693-R1703.
- 31 Nakanishi, H., Sun, Y., Nakamura, R., Mori, K., Ito, M., Suda, S., Namba, H., Storch, F., Dang, T., Mendelson, W., Mishkin, M., Kennedy, C., Gillin, J., Smith, C. & Sokoloff, L. (1997). Positive correlations between cerebral protein synthesis rates and deep sleep in *Macaca Mulatta*. *Eur. J. Neurosci*. 9, 217-279.
- 32 Pitman, J. L., DasGupta, S., Krashes, M. J., Leung, B., Perrat, P. N., & Waddell, S. (2009). There are many ways to train a fly. *Fly*, 3(1), 3.
- 33 Purves, D., Augustine, G., Fitzpatrick, D., Hall, W., Lamantia, A.S., Mcnamara, J., Williams, S. (2008). *Neurociencia*. Madrid: Médica Panamericana.

- 34 Ratterborg, N., Mandt, B., Obermeyer, W., Winsauer, P., Huber, R., Wikelski, M. & Benca, R. (2004). Migratory sleeplessness in the white crowned sparrow (*Zonotrichialeucophrys gambelii*). *PLoS Biol.*, 2(7), 924-936.
- 35 Rechtschaffen, A., Bergmann B.M. (1995). Sleep deprivation in the rat by the disk-over-water method. *Behav Brain Res.* 69:55-63.
- 36 Roman, V., van der Borgh, K., Leemburg, S.A., van der Zee, E.A. & Meerlo, P. (2005). Sleep restriction by forced activity reduces hippocampal cell proliferation. *Brain Res.* 1065, 53-59.
- 37 Santalla, M., Portiansky, E. L., Ferrero, P. V. (2016). *Drosophila melanogaster*, un modelo animal emergente en el estudio de enfermedades cardiacas humanas. *Revista Argentina de Cardiología.* 84, 424-430.
- 38 Seugnet, L., Suzuki, Y., Vine, L., Gottschalk, L., & Shaw, P. J. (2008). D1 receptor activation in the mushroom bodies' rescues sleep-loss-induced learning impairments in *Drosophila*. *Curr Biol*, 18(15), 1110-1117. doi: 10.1016/j.cub.2008.07.028
- 39 Seugnet, L., Suzuki, Y., Thimgan, M., Donlea, J., Gimbel, S. I., Gottschalk, L., Shaw, P. J. (2009). Identifying sleep regulatory genes using a *Drosophila* model of insomnia. *J Neurosci*, 29(22), 7148-7157. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5629-08.2009
- 40 Seugnet, L., Galvin, J. E., Suzuki, Y., Gottschalk, L., & Shaw, P. J. (2009). Persistent short-term memory defects following sleep deprivation in a *drosophila* model of Parkinson disease. *Sleep*, 32(8), 984-992.
- 41 Seugnet, L., Galvin, J. E., Suzuki, Y., Gottschalk, L., & Shaw, P. J. (2009). Persistent short-term memory defects following sleep deprivation in a *drosophila* model of Parkinson disease. *Sleep*, 32(8), 984-992.
- 42 Shaw, P. J., Cirelli, C., Greenspan, R. J., Tononi, G. (2000). Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science.* 287(5459), 1834-1837.

- 43 Siegel, J. M. (2008). Do all animals sleep? *Trends in Neurosciences*, 31(4), 208-213.
- 44 Sorribes, A., Þorsteinsson, H., Arnardóttir, H., Jóhannesdóttir, I. Þ., Sigurgeirsson, B., de Polavieja, G. G., & Karlsson, K. Æ. (2013). The ontogeny of sleep-wake cycles in zebrafish: a comparison to humans. *Frontiers in Neural Circuits*, 7, 178. <http://doi.org/10.3389/fncir.2013.0017>
- 45 Sossin, W. S., & Lacaille, J. C. (2010). Mechanisms of translational regulation in synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol*, 20(4), 450-456. doi: 10.1016/j.conb.2010.03.011.
- 46 Steiger A. (2003). Sleep and endocrinology. *Journal of internal medicine*, 254(1), 13–22. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.2003.01175.x>
- 47 Torterolo, P., & Vanini, G. (2010). [New concepts in relation to generating and maintaining arousal]. *Rev Neurol*, 50(12), 747-758.
- 48 Tung, A., Takase, L., Fornal, C. & Jacobs, B. (2005). Effects of sleep deprivation and recovery sleep upon cell proliferation in adult rat dentate gyrus.
- 49 Vassalli, A., & Dijk, D. J. (2009). Sleep function: current questions and new approaches. *The European journal of neuroscience*, 29(9), 1830–1841. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06767>.
- 50 Vogt, K., Schnaitmann, C., Dylla, K. V., Knapek, S., Aso, Y., Rubin, G. M., & Tanimoto, H. (2014). Shared mushroom body circuits underlie visual and olfactory memories in *Drosophila*. *eLife*, 3, e02395. <http://doi.org/10.7554/eLife.02395>.
- 51 Yokogawa, T. *et al.* (2007). Characterization of sleep in zebrafish and insomnia in hypocretin receptor mutants. *PLoS Biol*. 5(10). 2379-2397.
- 52 Zhdanova, I., Wang, S., Leclair, O., Danilova N. (2006). Melatonin promotes sleep-like in zebrafish. *Brain Res*. 903, 263-268. doi: 10.1016/S0006-8993(01)02444-1

53 Zielinski, M. R., McKenna, J. T., & McCarley, R. W. (2016). Functions and Mechanisms of Sleep. *AIMS neuroscience*, 3(1), 67–104. <https://doi.org/10.3934/Neuroscience.2016.1.67>