



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE METILBENCENO
SOBRE EL PATRÓN DEL SUEÑO Y LA ACTIVIDAD BIOELÉCTRICA
CEREBRAL”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

MARCO ANTONIO SALGADO VALLE

ASESORES:

Dr. ALFONSO ALFARO RODRÍGUEZ
Dr. PEDRO SÁNCHEZ APARICIO
Dr. JOSÉ ANTONIO IBANCOVICH CAMARILLO

REVISORES:

MVZ. Esp. DESIDERIO RODRIGUEZ VELÁZQUEZ
Dr. en C. HORACIO JOSÉ REYES ALVA

Toluca, México; febrero de 2018



DEDICATORIA

A MI FAMILIA POR LA FORTALEZA, MIS ASESORES POR EL CONOCIMIENTO Y A LA
FMVZ – UAEMEX POR LA OPORTUNIDAD Y CONFIANZA.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

POR PERMITIRME LA DICHA DE OBTENER UN LOGRO MÁS, POR DARME LA FUERZA, INTELIGENCIA Y SABIDURÍA. POR TODAS LAS PRUEBAS QUE ME VAS PONIENDO EL EN EL CAMINO Y ME VAS ENSEÑANDO UNA LECCIÓN DIARIA. POR LA SALUD, PAZ Y AMOR QUE ME BRINDAS GRACIAS.

A MI FAMILIA

A TI PAPÁ POR TU TRABAJO Y ESFUERZO QUE ME OTORGARON TODO LO NECESARIO PARA REALIZAR MIS ESTUDIOS, POR LOS VALORES, REGAÑOS Y AMOR QUE ME BRINDAS QUE ME HACEN UN HOMBRE DE BIEN. A TI MAMÁ POR TUS ORACIONES, DESVELOS, ATENCIONES Y POR LOS RICOS DESAYUNOS QUE TE PREOCUPABAS EN DARME, GRACIAS POR TODO TU AMOR.

A MIS HERMANOS QUE CON SU EJEMPLO COMO PROFESIONISTAS ME IMPULSARON A NO RENDIRME, POR SUS BUENOS CONSEJOS Y TODO SU APOYO GRACIAS.

A MIS ASESORES

POR SU PROFESIONALISMO, EXPERIENCIA Y TODO EL CONOCIMIENTO TRANSMITIDO QUE ME APORTARON, POR SU TIEMPO, PACIENCIA E INFINITO APOYO GRACIAS.

A MIS AMIGOS

POR TODOS LOS BUENOS Y MALOS MOMENTOS QUE NOS LLEVARON A FORJAR UNA GRAN AMISTAD.

TÍTULO

“EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE METILBENCENO SOBRE EL PATRÓN DEL SUEÑO Y LA ACTIVIDAD BIOELÉCTRICA CEREBRAL”

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
TÍTULO	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
1.- Agentes inhalatorios y drogas en jóvenes	3
2.- Metilbenceno	4
2.1 Caracterización del metilbenceno	5
2.2 Relación Metilbenceno-hombre-animal	5
2.3 Efecto del metilbenceno en el organismo	6
3.- Sueño	7
3.1 Caracterización de los patrones de sueño	8
3.2. Fases de sueño	9
3.2.1. Vigilia	10
3.2.2. Sueño NMOR	11
3.2.2.1 Fase 1	11
3.2.2.2 Fase 2	12
3.2.2.3 Fase 3	12
3.2.3. Sueño MOR	13
3.3 Importancia del buen dormir	14
3.4 Privación del Sueño	16
4.- Actividad bioeléctrica cerebral	16
5.- Electroencefalograma	17
5.1 Aplicación clínica del EEG	17
6. Uso de la rata como modelo animal de laboratorio	18
JUSTIFICACIÓN	20
HIPÓTESIS	21
OBJETIVOS	22
GENERAL	22
ESPECÍFICOS	22

MATERIAL.....	23
METODOLOGÍA	24
Número de Animales y Localización	24
<i>Manipulación</i>	25
Diseño experimental.....	25
Exposición a metilbenceno.....	25
Registro poligráfico.....	26
ANÁLISIS DE DATOS.....	30
LÍMITE DE ESPACIO.....	31
LÍMITE DE TIEMPO.....	32
RESULTADOS.....	33
DISCUSIÓN.....	35
LITERATURA CITADA.....	38
GLOSARIO	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título del cuadro	Página
Cuadro 1.	Características físico Químicas del metilbenceno	4
Cuadro 2.	Tratamientos, grupo control y grupo experimental	25
Cuadro 3.	Cronograma de actividades	32
Cuadro 4.	Parámetros del sueño en ratas con exposición crónica a Metilbenceno	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título de la figura	Página
Figura 1.	Características de las ondas durante la vigilia	10
Figura 2.	Características de las ondas durante la fase 1 del sueño	11
Figura 3.	Características de las ondas durante las fases 2 del sueño	12
Figura 4.	Características de las ondas durante la fase 3 del sueño	13
Figura 5.	Características de las ondas durante la fase de sueño MOR	14
Figura 6.	Representación esquemática de las diferentes regiones analizadas en coordenadas del diagrama sagital	
Figura 7.	Rata en primer etapa de anestesia general	26
Figura 8.	Calibración de equipo estereotáxico	27
Figura 9.	Corte de piel y proceso de Debridación	28
Figura 10.	Implantación de electrodos	28
Figura 11.	Representación esquemática de zona para colocación de electrodos	29
Figura 12.	Ubicación del Instituto Nacional de Rehabilitación	31

RESUMEN

Durante los últimos años, se ha presentado una tendencia de aumento en el abuso de drogas o agentes inhalantes más comúnmente utilizados por trabajadores y jóvenes adictos. El metilbenceno es uno de los solventes orgánicos aplicados en pinturas, pegamentos, gasolina y limpiadores de PVC. Esta problemática, ha sido asociada a la presencia de alteraciones en los trastornos del sueño en personas que laboran en fábricas de productos hechos con solventes como el metilbenceno. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el efecto de la exposición crónica a vapores de metilbenceno sobre los patrones de sueño. Se utilizaron 20 ratas Wistar macho, se formaron dos grupos, el grupo I o control, recibió NaCl al 0,9% y el grupo II recibió exposición a 1,5 g/kg de metilbenceno; 15 minutos diarios desde los 30 días de edad hasta los 60 días, para después realizarle el registro electroencefalográfico (EEG) de 24 horas. Los animales fueron eutanasiados después del registro del EEG. Se encontró que la administración crónica del metilbenceno afectó la organización de los patrones de sueño, el Sueño de ondas lentas (SOL) aumentó (* $p < 0.01$) y Sueño paradójico (SP) disminuyó (** $p < 0.002$), mientras que Vigilia (V) presentó un déficit (* $p < 0.01$). Este estudio mostró que la exposición crónica al metilbenceno afecta el sistema nervioso central (SNC), reflejándose en el aumento de la vigilia y disminución drástica del sueño MOR.

INTRODUCCIÓN

Un incremento en el abuso de drogas o agentes inhalantes ha sido observado por presentar una tendencia a la alza, sobre todo en humanos jóvenes. El metilbenceno es el principal solvente orgánico usado en la elaboración de pinturas, pegamentos, gasolina y limpiadores catalogados como PVC (Anderson y Loomis, 2003; Echeverría *et al.*; 1991; Lucchini, 2000). La inhalación de los productos fabricados a base de metilbenceno provocan en el ser humano síntomas asociados a la afectación en el sistema nervioso central y autónomo, los cuales pueden manifestarse con presencia de dolor, pesadez de la cabeza, vértigo, olvido, fatiga, lasitud, pérdida del apetito, insomnio e incluso trastornos del sueño. Estos compuestos alteran la función de una variedad de canales iónicos que incluyen canales activados por ATP, acetilcolina, GABA, glutamato y serotonina (5-HT), así como canales de Sodio y Calcio dependientes del voltaje (Chien-Lu *et al.*, 2007; Bale *et al.*, 2005; Williams *et al.*, 2005).

La administración repetida de metilbenceno provoca alteraciones en el comportamiento en los modelos animales tales como; una disminución grave en el estado de alerta (Takeuchi y Hisanga, 1977; Chen y Lee, 2002). Hasta la fecha, se han propuesto diferentes mecanismos que tratan de explicar los efectos tóxicos del metilbenceno. Una de estas explicaciones, señala que el metilbenceno podría interrumpir la función de la membrana neural mediante una división no específica dentro de la bicapa lipídica y que actúa a nivel de las proteínas hidrófobas integrales de la membrana. En relación con el fenómeno del sueño, se sabe que el insomnio parcial y la hiperactividad inducidas por metilbenceno están asociadas con concentraciones reducidas de 5-HT, incremento en los niveles de la noradrenalina (NA) producida a nivel cortical y ácido 5-Hidroxiindolacético (5-HIAA) (Von Euler *et al.*, 1998; Yamawaki *et al.*, 1982; Arito *et al.*, 1985). En este sentido, se ha postulado que la exposición aguda de altas concentraciones de metilbenceno en modelos animales, afecta la actividad eléctrica del corazón que se produce en cada latido cardiaco. El objetivo del presente estudio consistió en determinar los efectos de la exposición de metilbenceno sobre

el SNC, utilizando como índice de integración funcional, los patrones del ciclo sueño-vigilia, en un modelo animal.

REVISIÓN DE LITERATURA

1.- Agentes inhalatorios y drogas en jóvenes

Durante los últimos años, se ha presentado una tendencia en aumento del abuso de drogas o agentes inhalantes. Un estudio realizado por Medina-Mora *et al.* (1997) señalaron que los jóvenes inhalan drogas como una forma de refugio a causa del maltrato o abuso sexual, e incluso por el dolor y ausencia generada por la pérdida de un familiar cercano. Otras causas están relacionadas con los problemas cotidianos con comerciantes e incluso la violencia policiaca. La falta de programas de prevención del uso de drogas o de disminución de riesgos asociados con la inhalación de solventes ocasiona que este tipo de actividades en países en vías de desarrollo se sigan realizando (Gutiérrez y Vega, 1999).

Encuestas realizadas con niñas y niños, señalan que cuando están bajo los efectos de drogas inhalantes, aumenta el riesgo de abuso sexual, dejan de comer o beber agua, además de sufrir accidentes o participar en peleas callejeras. La mayoría de los denominados “niños de la calle” ingieren inhalantes a base de metilbenceno para drogarse, olvidar, distraerse, consolarse, relajarse o simplemente porque no pueden dejar de hacerlo, según ellos, es su vicio. Todos ellos tienen motivos para querer cambiar su estado de ánimo, que, conforme al modelo modificado de estrés social, se debe a las vicisitudes graves, los problemas cotidianos, los vínculos sociales y la falta de recursos institucionales (OMS/PSA, 1995).

En México, existen recursos gubernamentales para generar la elaboración de programas que podrían o deberían ayudar a las niñas y niños a evitar o disminuir el uso de inhalables, así como los riesgos que estos implican. No obstante, no se han hecho programas para trabajar en las calles, si no solo para atender a poblaciones diferentes a la de los “niños callejeros”, y casi siempre están destinados a curarlos cuando acuden a los consultorios. Aunque hay algunos dedicados a la prevención fuera de las instituciones, casi todos están dirigidos a los niños que asisten a la escuela (Gutiérrez y Vega, 1999).

Desde el punto de vista de la investigación básica, la problemática a la que se enfoca este proyecto, está asociada a la presencia de alteraciones en los trastornos del sueño en personas que laboran en fábricas de productos hechos con solventes como el metilbenceno.

El metilbenceno es uno de los solventes orgánicos aplicados en pinturas, pegamentos, gasolina y limpiadores de PVC (Anderson y Loomis, 2003; Echeverría *et al.*; 1991; Lucchini, 2000). Su inhalación provoca síntomas que alteran el sistema nervioso central y autónomo, generando insomnio y trastornos del sueño (Chien-Lu *et al.*, 2007; Bale *et al.*, 2005; Williams *et al.*, 2005).

2.- Metilbenceno

Líquido incoloro transparente, considerado como solvente, producido en el proceso de manufactura de la gasolina y de otros combustibles a partir del petróleo crudo y en la manufactura de coque, combustible sólido formado por la destilación de carbón bituminoso calentado a temperaturas de 500 a 1100 °C sin contacto con el aire. Se usa en la fabricación de pinturas, diluyentes de pinturas, barniz para uñas, lacas, adhesivos, caucho, imprenta y curtido de cueros, manufactura de benceno, nylon, plásticos, poliuretano, síntesis de trinitrotolueno (TNT), ácido benzoico, cloruro de benzoilo y metilbenceno diisocianato. También se añade a la gasolina junto a benceno y xileno para mejorar el octanaje.

Cuadro 1. Características físicoquímicas del metilbenceno.

Fórmula química: C ₇ H ₈	Presión de vapor (kPa a 20° C): 2.9
Masa molecular: 92,1 g/mol.	Densidad relativa del gas (aire = 1g/ml): 3.2
Punto de ebullición: 111°C	Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20° C (aire = 1g/ml): 1.06
Punto de fusión: -95°C	Punto de inflamación: 4°C
Densidad relativa del líquido (agua = 1g/ml): 0.87	Temperatura de autoignición: 480°C

2.1 Caracterización del metilbenceno

El metilbenceno puede ser liberado al aire, agua y suelo en lugares donde se produce o usa, se encuentra comúnmente en el aire, especialmente cuando hay mucho tráfico de vehículos. En Estados Unidos se ha realizado el monitoreo del aire libre, demostrando que el metilbenceno está presente en niveles aproximados de 1 a 35 partes por billón en volumen (ppbv). También se ha demostrado que en los espacios o sitios donde se usan productos como son: diluyentes de pintura, solventes, o productos de tabaco, los niveles de metilbenceno son más altos que en espacios abiertos. El metilbenceno se evaporará fácilmente al aire, si se encuentra en la superficie del suelo se evapora rápidamente al aire o puede ser degradado rápidamente a otras sustancias químicas por microorganismos.

2.2 Relación Metilbenceno-hombre-animal

El metilbenceno puede ingresar al organismo si es transportado en aire, agua o suelo. La exposición se da al inspirar metilbenceno disperso en el aire libre. La gasolina y otros productos que se usan en el trabajo o en el hogar, por ejemplo, solventes o diluyentes de pintura, contienen metilbenceno. Éste al ser inhalado pasa directamente a la sangre a través de los pulmones, los factores asociados a la edad, sexo, índice de masa corporal y estado de salud afectan la disposición de metilbenceno en el cuerpo.

El metilbenceno se absorbe en el organismo principalmente a través del tracto respiratorio y, en menor proporción a través de la piel. Traspasa la membrana alveolar. La mezcla sangre/aire se mantiene en una proporción de 11,2 a 15,6 a 37 °C y, entonces, se distribuye por los distintos tejidos en cantidades variables que dependen de sus características de perfusión y solubilidad, respectivamente. La proporción tejido/sangre es de 1:3, excepto en el caso de los tejidos ricos en grasas, que presentan un coeficiente de 80/100. El metilbenceno es oxidado en su cadena lateral por los microsomas hepáticos (mono-oxigenación microsomal). El producto más importante de esta transformación, que representa aproximadamente un 68 % del metilbenceno absorbido, es el ácido hipúrico (AH), que aparece en la orina debido a la excreción renal que suele producirse en los

túbulos proximales. También pueden detectarse en la orina pequeñas cantidades de o-cresol (0,1 %) y p-cresol (1 %), como resultado de la oxidación del núcleo aromático

2.3 Efecto del metilbenceno en el organismo

En el hígado, los mismos sistemas enzimáticos son los encargados de oxidar el metilbenceno, el estireno y el benceno. Por ello, estas tres sustancias tienden a inhibirse mutuamente de forma competitiva. Si se administra a ratas una cantidad importante de metilbenceno, se observa una disminución de la concentración de los metabolitos del benceno en los tejidos y en la orina y un aumento de benceno en el aire espirado.

Existe posibilidad de que el metilbenceno afecte el SNC, los efectos sobre éste pueden ser pasajeros, destacando dolores de cabeza, mareo o pérdida del conocimiento. Sin embargo, efectos tales como incoordinación, alteraciones mentales, pérdida de la visión y la audición pueden pasar de manifestaciones agudas a crónicas e incluso ser de tipo permanentes con exposición repetida, especialmente en concentraciones asociadas con la inhalación intencional de solventes. La exposición de niveles altos de metilbenceno durante el embarazo, como los asociados con inhalación intencional de solventes, puede producir retraso mental y alteraciones del crecimiento en niños. Otros efectos que pueden causar preocupación incluyen los efectos negativos sobre el riñón, hígado y sistema reproductor. Exposiciones únicas a metilbenceno o exposiciones repetidas durante unas semanas puede producir dolores de cabeza y somnolencia y puede alterar la capacidad para pensar claramente. Dependiendo de la concentración y exposición a la que se estuvo expuesto, serán las consecuencias negativas a nivel genético, sobre todo cuando se es adicto al solvente. Por lo que la exposición continua provoca somnolencia y hasta la pérdida del conocimiento, esto se agrava hasta producir la muerte, al interferir con la respiración y las contracciones del corazón. Cuando la exposición cesa, la somnolencia y el mareo desaparecerán, para llegar a un estado normal.

La exposición diaria en el trabajo a cantidades bajas o moderadas puede producir cansancio, confusión, debilidad, sensación de embriaguez, pérdida de la memoria, náusea y pérdida del apetito. La exposición de metilbenceno en el trabajo por un período prolongado

puede generar cierto grado de sordera y pérdida de la visión. El uso de ciertos medicamentos, como por ejemplo aspirina y paracetamol, durante exposición al metilbenceno puede tener graves consecuencias sobre la audición. Aún se desconoce si los niveles bajos de metilbenceno respirados en el trabajo pueden producir efectos permanentes en el cerebro o en el cuerpo luego de muchos años de exposición.

Los efectos del metilbenceno en animales como la rata y el ratón *balb-c*, son similares a los observados en seres humanos. Los animales expuestos a cantidades moderadas o altas de metilbenceno también pueden experimentar efectos adversos en hígado, riñones, pulmones y sistema inmune.

3.- Sueño

La guía médica familiar publicada en 1981 señala una de las definiciones de sueño más citadas, la cual corresponde al estado fisiológico de aparición periódica caracterizada por la supresión casi total de la actividad consciente y de relación. La actividad motriz voluntaria desaparece y la sensibilidad general queda abolida. El sueño es una actividad fisiológica necesaria para la homeostasis de los seres vivos, constituye una de las funciones fisiológicas más importantes para el correcto funcionamiento de las capacidades cognitivas e intelectuales del ser humano, sin embargo, es considerado altamente susceptible a sufrir alteraciones por diversos factores externos y como consecuencia modificar la fisiología del organismo. Santamaría (2003) refiere que el sueño es prácticamente universal en el reino animal y es imprescindible para la vida ya que su privación absoluta en mamíferos produce la muerte en un intervalo de tiempo de una a tres semanas.

De manera normal, el embarazo provoca cambios en los patrones del sueño que persisten y predisponen a la madre a sufrir alteraciones, así como modificar la actividad fetal y el sueño neonatal. Expertos en el tema del sueño, señalan que los adolescentes deben dormir un mínimo de ocho horas diarias, resultando vital tener un sueño reparador y suficiente. La pérdida de sueño en adolescentes genera síntomas como irritabilidad, somnolencia, falta de concentración y bajo rendimiento entre otros.

A continuación, se identifican las fases del sueño y sus alteraciones durante el embarazo normal y/o anormal, así como los cambios cíclicos en la actividad eléctrica cerebral y en otros parámetros fisiológicos.

La importancia del estudio del sueño y su relación con muchas otras funciones del organismo radica en su actividad bioquímica y en la información que nos ofrece. Llaguno *et al.* (2015), realizaron estudios en el ser humano, indicando que el sueño es una parte integral y básica del ciclo “actividad-reposo”, la cual resulta ser necesaria para la homeostasis, independientemente de la etapa de desarrollo y que se encuentra presente en todas las formas de vida. Este fenómeno se caracteriza por una posición reclinada, ojos cerrados, disminución del movimiento y disminución de la capacidad de respuesta al ambiente interno y externo (Markov y Goldman, 2006). Aunque el sueño es un fenómeno del SNC, se puede considerar altamente susceptible a alteraciones debido a factores estresantes que se originan fuera del SNC (Rose *et al.*, 2001). Por lo tanto, el buen dormir resulta de importancia en la homeostasis del organismo.

El sueño no es un proceso único, es decir, sigue un patrón determinado denominado hipnograma. En el humano está constituido por 2 fases del dormir. El sueño sin movimientos oculares (NMOR), constituido por tres estadios y una fase de sueño paradójico o sueño de movimientos oculares rápidos (sMOR), procesos naturales y fisiológicamente importantes e indispensables para la reparación a nivel físico y mental.

Su estudio y cuantificación son llevados a cabo mediante técnicas electrofisiológicas, fisiológicas y de índices conductuales.

3.1 Caracterización de los patrones de sueño

Existen interfaces que permiten la comunicación entre hombre-máquina a través de diferentes canales de entrada/salida, por ejemplo: voz, visión, audición, tacto y movimiento. Los dispositivos que permiten la comunicación hombre-máquina mediante el registro de actividad cerebral, son conocidos como Interfaces Cerebro-Computadora (BCI, Brain Computer Interface por sus siglas en inglés).

Una BCI regularmente está basada en la electroencefalografía, que es una técnica para medir la actividad eléctrica cerebral y se utiliza de forma clínica para estudiar la tipología de ondas en zonas del cerebro en detección de patologías; así también tiene una gran resolución temporal, fácil uso y portabilidad (Minguez, 2003)

El EEG, se define como la actividad eléctrica de un tipo alterno registrado desde la superficie del cuero cabelludo después de ser recogido por electrodos metálicos y medios conductores. Es un testimonio de función o disfunción integrada de materia blanca y gris, y permanece como una medición importante de la integridad del SNC, que ha permitido el establecimiento de diferentes estados electrofisiológicos y conductuales (Teplan, 2002). Baghdoyan y Lydic, (2002) señalaron que el EEG está “desincronizado” durante la vigilia y el sueño MOR (en contraste con la sincronización durante el sueño NMOR), dejando evidencia de que durante los estados excitados del cerebro (vigilia y sueño sMOR) hay activación de la formación reticular mesencefálica y actividad oscilatoria en la banda de frecuencias gamma (<30Hz), además de mejora en la sincronización de las respuestas corticales, las cuales juegan un papel importante en el procesamiento de señales sensoriales.

3.2. Fases de sueño

Si existe alguna característica que define verdaderamente al sueño, es su falta de uniformidad. A lo largo de la noche, se suceden numerosos cambios cíclicos en la actividad eléctrica cerebral y en otros parámetros fisiológicos y de comportamiento, que han servido como criterio para dividir al proceso del sueño en diversas fases (Salín-Pascual, 2009).

Cuando un sujeto se dispone a dormir, la actividad eléctrica de su cerebro cambia al pasar del estado de vigilia al de sueño, dicho cambio no es constante para toda la noche, sino que a lo largo de ella se modifica varias veces. Los cambios observados son tan claros que han permitido clasificar varias fases de sueño.

A la técnica de registro continuo y simultáneo de las variables fisiológicas que definen las etapas del sueño y la vigilia se denomina polisomnografía. Los tres parámetros básicos de registro son la actividad cerebral, registrada a través de EEG, tono muscular, registrado a

través de electromiograma (EMG) y los movimientos oculares, a través de electrooculograma (EOG) (Markov y Goldman, 2006). El electrocardiograma (EKG), el registro de flujo aéreo respiratorio y registro de movimientos de los miembros inferiores son otras variables, a menudo incluidas en el registro polisomnográfico (RPSG).

Tradicionalmente, el ciclo sueño-vigilia en el adulto es determinado por distintos patrones de EEG conocidos como "las fases de vigilia y sueño", las cuales se correlacionan bien con alguna de las características fisiológicas, bioquímicas y conductuales observadas durante estos procesos. Esas fases son vigilia (V), sueño NMOR (3 fases) y sueño sMOR.

3.2.1. Vigilia

El ritmo beta es característico del estado de vigilia activa; se presenta cuando el sujeto realiza alguna operación mental, o se le aplica algún estímulo sensorial, cuando abre los ojos, o al dirigir su atención visual hacia algún objeto. La vigilia relajada se caracteriza por ritmo alfa de bajo voltaje, que consiste en ondas sinusoidales rítmicas de 9 a 10 Hz registradas sobre la región occipital de la cabeza con ojos cerrados. La medición de frecuencia cardíaca y respiratoria, no suelen ser suficientes para reconocer las fases, de éste modo, el incremento en el tono muscular puede ayudar a identificar el estado de vigilia del sujeto (Figura 1) (Zeng *et al.*, 2012).

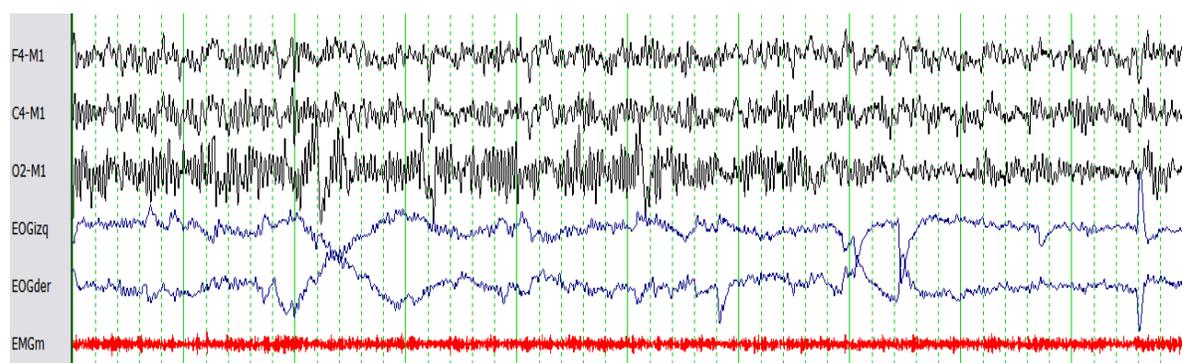


Figura 1. Características de las ondas durante la vigilia. Las letras F-4-M1, C-4 MI y O2-MI, son electrodos en el cuero cabelludo, para leer el EEG, que da información sobre si se está dormido o despierto, y sobre la fase de sueño en la que se encuentra. Los electrodos

oculares, ojo izquierdo (EOGizq) y ojo derecho (EOGder) miden los movimientos oculares y el EMGm mide la actividad muscular o tono muscular.

3.2.2. Sueño NMOR

3.2.2.1 Fase 1

También llamada de somnolencia, aumenta la frecuencia y regularidad de la actividad theta (4-7 HZ) en el hipocampo. Se presentan alternadas las ondas beta (15-20 HZ) que representan la actividad cortical rápida. Esta fase corresponde a la transición sueño-vigilia, aún cuando se mantiene cierto contacto con la realidad. La fase 1 aparece fundamentalmente durante la transición de la vigilia al sueño, o después de movimientos corporales durante el sueño. Durante el sueño normal, la fase 1 tiende a ser relativamente corta, dentro de un rango de 1 a 7 minutos. La fase 1 de sueño normalmente ocupa de 4-5% del tiempo total de sueño (Figura 2).

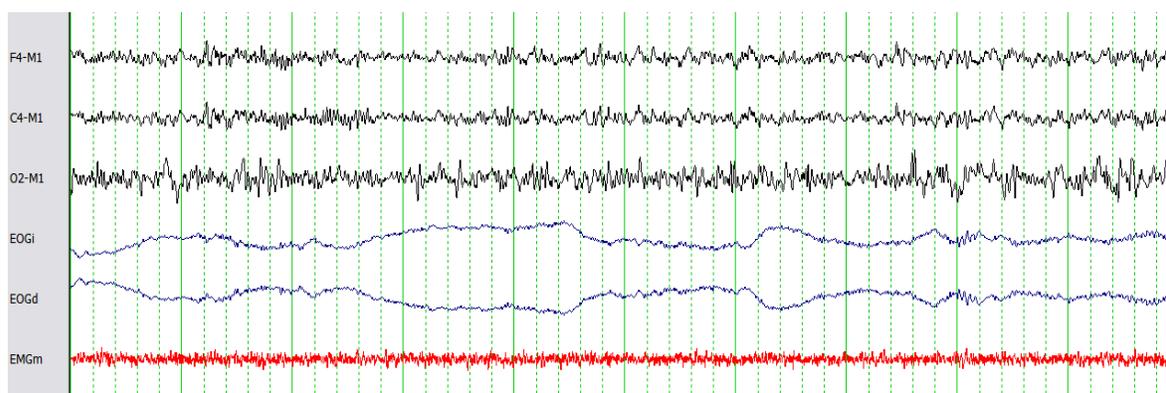


Figura 2. Características de las ondas durante la fase 1 del sueño. Las letras F-4-M1, C-4 MI y O2-MI, son electrodos en el cuero cabelludo, para leer el EEG, que muestra las ondas alfa y beta, características en esta fase de sueño. Los electrodos oculares, ojo izquierdo (EOGizq) y ojo derecho (EOGder) presentan los movimientos musculares y el EMGm muestra el tono muscular que se encuentra activo.

3.2.2.2 Fase 2

Posterior a la fase 1, se acentúa la expresión de la actividad talámica; además aparecen husos de sueño (12-14 HZ). En esta etapa también aparecen, principalmente en el vértex los denominados complejos K (Onda negativa de alto voltaje seguida de un componente positivo). Así, esta fase se define por la presencia de husos del sueño o complejos K y por la ausencia de suficientes ondas lentas difásicas, de gran amplitud (0.5 segundos aproximadamente) que define la presencia de fase 3. No se presentan movimientos oculares rápidos. Usualmente ocupa de 45-55% del tiempo total de sueño (Figura 3).

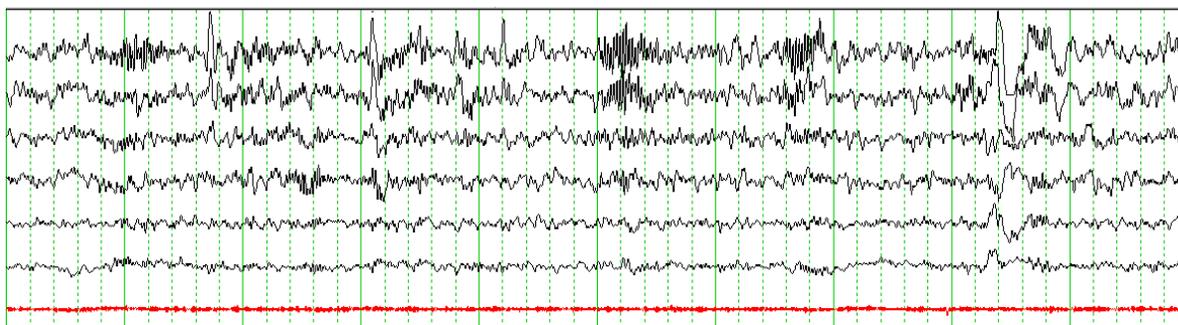


Figura 3. Características de las ondas durante las fases 2 del sueño. Las letras F-4-M1, C-4 MI y O2-MI, son electrodos en el cuero cabelludo, para leer el EEG, nótese la presencia de husos de sueño en la corteza cerebral. Los electrodos oculares, ojo izquierdo (EOGizq) y ojo derecho (EOGder) muestran ausencia de movimientos oculares mientras que el EMGm detecta que el tono muscular se mantiene activo.

3.2.2.3 Fase 3

Llamada sueño de ondas lentas (SOL), sueño delta o sueño sincronizado. Se caracteriza primariamente por la aparición de grandes ondas lentas delta (0.5-3HZ y de 70 a 90 μ v). La actividad delta principalmente se presenta en la primera parte de la noche (cuando es mayor la necesidad de dormir), y junto con su amplitud disminuye a lo largo de la noche (Figura 4), constituye del 20-65% del total de sueño. En esta fase, el tono muscular está disminuido en relación con las fases anteriores. En general, durante el SOL se producen

disminuciones en la frecuencia cardíaca, la presión arterial, el volumen minuto respiratorio, el tono muscular esquelético y el flujo sanguíneo cerebral (Krahn *et al.*, 2010).

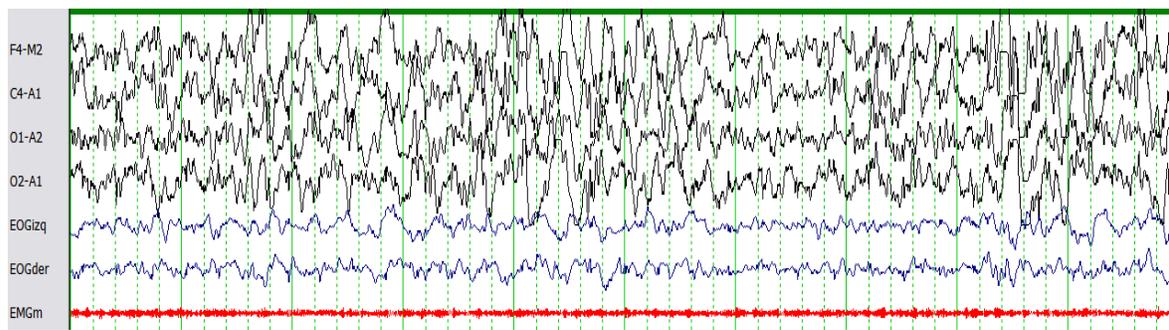


Figura 4. Características de las ondas durante la fase 3 del sueño. Las letras F-4-M1, C-4-MI y O2-MI, son electrodos en el cuero cabelludo, para leer el EEG, nótese las ondas delta u ondas lentas en la corteza cerebral. Los electrodos oculares, ojo izquierdo (EOGizq) y ojo derecho (EOGder) muestran poca actividad y el EMGm detecta que la actividad muscular está presente.

3.2.3. Sueño MOR

El sueño MOR (sMOR) está compuesto de componentes tanto tónicos (que ocurren a lo largo de todo el ciclo de MOR) como fásicos (que ocurren intermitentemente durante el ciclo de MOR). Cada uno de estos elementos es generado, modulado y ejecutado por diferentes grupos neuronales ubicados en múltiples niveles, desde la corteza cerebral a la médula espinal (Lydic y Baghdoyan, 1998).

El sMOR se caracteriza por activación cortical, se observa actividad de baja amplitud y frecuencia mixta, con ráfagas de onda que semejan a las ondas theta solo que más agudas, por lo que se les ha denominado ondas dientes de sierra (6 Hz y amplitud de 40 a 100 mV) aparecen alrededor de la zona del vértex. En la EOG aparecen movimientos oculares rápidos en ráfagas, mientras en la EMG pérdida del tono muscular, sin embargo, comúnmente se aprecian episodios de temblor con duración de 0.25 segundos. La actividad del músculo esquelética sólo persiste en el diafragma, los músculos extraoculares y los

músculos del oído medio. El sMOR abarca del 20-25% del tiempo total de sueño (Figura 5) (Krahn *et al.*, 2010). Muchos fenómenos del sMOR son similares a la respuesta de alerta que se observa en la vigilia. Algunas regiones del tronco cerebral afectan la supresión motora en el sMOR (Lydic y Baghdoyan, 1998).



Figura 5. Características de las ondas durante la fase de sMOR. Las letras F-4-M1, C-4 MI y O2-MI, son electrodos en el cuero cabelludo, para leer el EEG, nótese las ondas en forma de sierra en la corteza cerebral. Los electrodos oculares, ojo izquierdo (EOGizq) y ojo derecho (EOGder) presentan ráfagas de movimientos oculares, mientras el EMGm detecta que el tono muscular está casi ausente.

3.3 Importancia del buen dormir

Aunque existen estructuras cerebrales cuya estimulación favorece más a uno u otro estado (sueño o vigilia), no existe propiamente un centro del sueño o la vigilia, además, si consideramos la actividad de neuronas individuales encontramos que la mayoría se mantienen activas tanto al dormir como al velar y lo que se altera ante todo es su pauta de actividad de descarga (Salín-Pascual, 2009). Durante el sueño se llevan a cabo cambios en el resto del organismo, además de los observados en la actividad eléctrica cerebral. En el caso del sueño NMOR se ha denominado a la fase 1 y 2 como sueño ligero; la 3 como sueño profundo y juntas abarcan del 75 al 80% del periodo total del sueño. De éstas, las fases de sueño profundo proporcionan una función reparadora a nivel físico debido a que las funciones reguladas por el sistema nervioso periférico, como las frecuencias respiratoria y cardiaca se tornan constantes y sincronizadas, es en este momento cuando se

lleva a cabo la liberación de ciertas hormonas debido a la función antagonista de los sistemas simpático y parasimpático que se encuentran disminuidas existiendo por ende relajación, con pocos movimientos musculares además de ausencia de movimientos oculares.

En el caso del sMOR, se da una activación de los procesos corporales. Al iniciarse un episodio de sMOR, la respiración se hace irregular, el pulso y la presión sanguínea exhiben fluctuaciones breves. En el sMOR, estudios en el hombre y en animales concuerdan con la existencia de un aumento significativo del flujo sanguíneo cerebral. Se presenta una desincronización en los ritmos cardíaco y respiratorio además de un incremento en la actividad endocrina. Se le atribuye una estimulación endógena sobre el cerebro con el fin de continuar con su desarrollo y programación genética principalmente en el feto y en el humano recién nacido, etapas cuyo periodo de duración es el más prolongado. En la edad preescolar y escolar en los niños, al sMOR se le asocia con procesos de consolidación de la memoria, aprendizaje, madurez cerebral y de continuidad de la estimulación endógena (Salín-Pascual, 2009; Beebe y Lee, 2007).

La duración del sueño insuficiente y la mala calidad del sueño se consideran endémicas en la sociedad moderna. Los hallazgos de estudios experimentales y epidemiológicos indican que la pérdida parcial crónica de sueño está asociada con un aumento de los riesgos de obesidad y una gran cantidad de trastornos relacionados con la obesidad, incluyendo tolerancia a la glucosa, hipertensión, síndrome metabólico o cardiopatía coronaria (Qui *et al.*, 2010), así mismo se asocia con mayor riesgo la depresión (Krishnan y Collop, 2006; Hobson *et al.*, 1975), mientras que la corta duración del sueño es asociada con una mayor incidencia de la diabetes (Van Cauter, 1990; Seron-Ferre *et al.*, 1993), obesidad (Spiegel *et al.*, 1994; Eriksson *et al.*, 1989), así como el aumento de mortalidad por todas las causas anteriores. De todas las enfermedades que resultan asociadas a la falta de sueño, la enfermedad cardiovascular es de especial importancia en varias complicaciones durante el embarazo, como la preeclampsia, con restricción del crecimiento intrauterino, parto prematuro y nacimiento (Okun *et al.*, 2009).

Sanford *et al.* (2001), mencionan que, aunque existe una evidencia mínima de los beneficios del buen dormir, así como de las interferencias de un mal sueño en el organismo, si es posible relacionar las enfermedades ya mencionadas con las alteraciones que presentan las ratas crónicamente privadas al sueño, que incluyen hipermetabolismo e incapacidad para termorregular adecuadamente, y susceptibilidad a infecciones oportunistas.

La alternancia vigilia-sueño es un ciclo endógeno, sigue un ritmo circadiano que es controlado principalmente por el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (Reloj biológico interno), esta estructura promueve la vigilia influyendo en la actividad neuronal en el tallo cerebral (Lee *et al.*, 2004). Lo que nos lleva a que el sueño es controlado por dos factores: el circadiano y el homeostático. En el adulto el promedio de sueño es de aproximadamente 8 horas por 16 de vigilia, aunque tal relación puede verse afectada por el grado de luminosidad ambiental, ciertos aspectos socioeconómicos y culturales y determinadas características individuales de tipo genético o constitucional (Regal *et al.*, 2009).

3.4 Privación del Sueño

El término privación del sueño es una reducción en el número habitual de horas de descanso. Las causas del trastorno del sueño son variables, cuyo impacto genera reducción de habilidades para tomar decisiones, memoria deficiente, pobre concentración, falta de motivación, microsueño, irritabilidad entre otros.

4.- Actividad bioeléctrica cerebral

El problema de la epilepsia en las últimas décadas ha atraído cada vez más la atención de los investigadores de diferentes especialidades. Por datos aportados por la literatura científica actual (Peñalver y Estévez, 1994) la morbilidad de la epilepsia en algunos países alcanza hasta el 1 % de la población. Otro factor de interés es que esta entidad se presenta en personas jóvenes y limita su capacidad tanto, intelectual como física.

El desarrollo de nuevos medicamentos anticonvulsivos y antiepilépticos requiere del modelaje experimental en animales de laboratorio. Un modelo experimental de tipo

genético a la fecha, no está estandarizado, pero su creación, podría contribuir, al estudio de la fisiopatología de la epilepsia y también, a la evolución de nuevas drogas provenientes de la flora nacional y contribuir al desarrollo de la industria médico farmacéutica.

5.- Electroencefalograma

El flujo y el procesamiento de la información ocurren en el cerebro de forma eléctrica y química, por lo que es preciso observar como varían estos procesos a lo largo del tiempo para entender su función. Las técnicas electrofisiológicas se basan en registrar de forma cercana o distante la corriente eléctrica que circula a través de las membranas neuronales, o de corrientes secundarias que se derivan de éstas. Los potenciales que se registran en el EEG provienen de la actividad eléctrica de los tejidos excitables, y se captan midiendo la diferencia de potencial existente entre un electrodo explorador y otro de referencia (Grave de Peralta *et al.*, 2004). La mayor ventaja de las técnicas del EEG consiste en que miden directamente, aunque a distancia, el fenómeno a estudiar en una preparación no invasiva, con una resolución del orden de milisegundos, que se corresponde con la ventana temporal en la que ocurre el procesamiento de información en el cerebro. Su mayor inconveniente es que, debido a su carácter macroscópico y la diversidad de configuración de fuentes posibles, a priori es imposible la determinación unívoca de los generadores del EEG o el magnetoencefalograma (MEG).

5.1 Aplicación clínica del EEG

Aparte de su valor teórico abstracto en el marco de las aplicaciones biomédicas de la física y la matemática, estos métodos pueden producir imágenes de alto valor clínico, comparables en cuanto al contenido de información a otras técnicas hemodinámicas conocidas por su alto costo (RM funcional) o su invasividad, entre ellas, las tomografías por emisión como PET o SPECT (Grave de Peralta-Mendez *et al.*, 2004). No obstante, las imágenes tomográficas funcionales derivadas del EEG o el MEG, presentan ventajas por su alta resolución temporal y espacial respecto a la obtenida por las tomografías por emisión PET o SPECT.

Por ejemplo, las evaluaciones del método EPIFOCUS con mediciones simultáneas en el cuero cabelludo y 10 electrodos intracraneales (Lantz *et al.*, 2001), muestran por primera vez un método lineal distribuido capaz de diferenciar entre la actividad epiléptica generada por diferentes posiciones del lóbulo temporal utilizando, únicamente, 22 electrodos de EEG. Estudios adicionales (Lantz *et al.*, 2003) muestran que EPIFOCUS es el único método lineal con un 100% de localización de fuentes dipolares simples para configuraciones de 100 o más electrodos, y que, seguido de LAURA, con un 50%, es el mejor localizador lineal de actividad dipolar (Grave de Peralta-Méndez *et al.*, 2002). Estudios más extensos que evalúan las imágenes funcionales de EPIFOCUS muestran una efectividad comparable o superior a las demás técnicas tomográficas.

Considerando el nivel de eficacia obtenido y el bajo costo de estas imágenes, resulta claro que las imágenes funcionales tomográficas derivadas del EEG tienen un gran futuro por delante.

6. Uso de la rata como modelo animal de laboratorio

El uso de animales en experimentación ha ido en paralelo al desarrollo de la biomedicina. Un animal de laboratorio se define como un ser vivo no humano, vertebrado o invertebrado, usado para la experimentación y otros fines científicos, su uso se basa, fundamentalmente, en la analogía fisiológica con la especie humana (Guillen, 2012). La ciencia de los animales de laboratorio surge para proporcionar a la comunidad científica la formación y directrices en todos los aspectos relacionados con la experimentación animal. Su marco ético plantea que los animales no deben ser sometidos a sufrimiento físico o psicológico y se regula por estrictas normas bioéticas. El uso de animales en experimentación es ético cuando no hay otra alternativa y su propósito está vinculado con la obtención de un bien mayor (National Research Council, 2011).

El lugar donde se alojan los animales de experimentación se denomina bioterio, animalario o estabulario, y se define como la instalación dedicada a la crianza, mantenimiento, cuidado y uso de los animales de laboratorio (Kollmus *et al.*, 2014). El bioterio no solo debe cubrir

las necesidades de los animales, sino también del personal que trabaja en él. El personal capacitado ha de evaluar el estado de salud de los animales de forma rutinaria, no solo por obligación legal y moral, sino también para garantizar resultados fiables y repetibles. Es necesario que esta evaluación sea más amplia y frecuente en procedimientos invasivos, quirúrgicos y a la llegada del animal al bioterio.

A pesar del alto costo y la dificultad que representa el desarrollo de un modelo animal, su uso nos permite estudiar la fisiopatología de una enfermedad inducida o espontánea, y el comportamiento animal. Dadas las posibles variaciones en las respuestas fisiológicas, es necesario tener un amplio conocimiento de la fisiología y anatomía comparada del modelo a emplear. Además, es aconsejable constatar la validez del biomodelo para el estudio. El ratón es el animal de laboratorio mejor caracterizado genéticamente. Si a ello sumamos su pequeño tamaño, fácil manejo, corto período gestacional, camadas grandes y rápida madurez sexual, todo ello lo convierte en una especie óptima para la creación de modelos. (Romero-Fernández *et al.*, 2016).

JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial, una de las principales problemáticas que se presentan con jóvenes de 16 a 23 años, es el uso de drogas de bajo costo, destacando aquellas como son los agentes inhalados que están fabricados a base de metilbenceno, entre ellos el thinner, las pinturas a base de aceite, los limpiadores PVC y pegamentos. Otra problemática de la cual se tiene registro, son las alteraciones en el sueño, como el insomnio, la cual se presenta en el personal que labora y que tiene contacto directo con este tipo de sustancias. Se tiene conocimiento que los agentes a base de metilbenceno provocan alteraciones en el SNC y autónomo. Con base en la problemática antes planteada, es menester realizar experimentos en modelos animales como la rata de laboratorio (cepa Wistar), bajo el esquema y en apego estricto a las Normas Oficiales Mexicanas sobre cuidado y uso de animales de experimentación, que permitan dilucidar si la exposición crónica al metilbenceno causa alteraciones en las fases del sueño. Los hallazgos pueden ayudar a comprender el mecanismo de acción en el sistema nervioso de aquellos individuos expuestos a tal sustancia.

HIPÓTESIS

La exposición crónica de metilbenceno altera los ciclos del sueño en ratas de la cepa wistar.

OBJETIVOS

GENERAL

Determinar los efectos de la exposición crónica de metilbenceno sobre los patrones del sueño en ratas de la cepa Wistar.

ESPECÍFICOS

Determinar la disfunción que causa la administración crónica de metilbenceno en roedores sobre los patrones del sueño.

Determinar el efecto de la administración de metilbenceno sobre la actividad bioeléctrica cerebral en ratas de laboratorio.

MATERIAL

- **Material Biológico**

Ratas de la cepa Wistar

- **Fármacos**

NaCL al 9%

Metilbenceno

Ketamina

Xilacina

- **Material Para Bioterio**

Luz

Lámpara

Agua

Alimento en forma de Pellets

Cajas de policarbonato

Viruta de madera

Bebederos

Jabón neutro

- **Material Para El Muestreo**

Aparato de cirugía estereotáxica

Campo quirúrgico estéril

Tornillos quirúrgicos (3x5 mm)

Cemento acrílico

Electrodos bipolares de acero inoxidable

Acrílico dental

Jaula de acrílico individual

Cámara de vidrio de cierre hermético

Hielo

- **Material Para Consulta**

Artículos científicos

Internet

Base de datos (PubMed, Medline, Redalix y Scopus)

Programa Microsoft Office Excel, Word

Programa Estadístico Graphpad prism

METODOLOGÍA

Número de Animales y Localización

Se utilizaron 20 ratas Wistar macho de 30 días de edad (peso promedio 95.5 ± 30 g), las cuales fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos, el G₁ con inhalación de aire, sin administración de tratamiento y el G₂ con exposición crónica a metilbenceno. Los animales fueron alojados individualmente en el cuarto de manejo experimental o bioterio del Instituto Nacional de Rehabilitación. El manejo de los animales y las condiciones internas del bioterio se adecuaron a los estándares de la NOM-062-1999 y de la “Guide for the care and use of laboratory animals” (2011) (Olfert *et al.*, 1993).

Dentro del bioterio se mantuvo un ciclo luz-oscuridad modificado de 12:12. De manera automática, la luz se encendió a la 8:00 horas y se apagó a las 20:00 horas. Para la iluminación se utilizó una lámpara con un foco de 60 Watts (si se requería iluminación durante la fase oscura se utilizaba un foco de luz roja de 60 Watts). La temperatura se mantuvo entre 20° y 26° C y la humedad relativa entre el 40% y el 50%. A los animales se les proporcionó agua potable *ad libitum* y pellets de Rodent Chow de la marca Purina *ad libitum*, y se alojaron en cajas de policarbonato (45 cm de largo, 25 cm de ancho y 20 cm de alto) con tapa de acero inoxidable y cama tipo viruta de madera de pino. La limpieza se realizó 3 veces a la semana, lavando y desinfectando las cajas, bebederos y comederos con agua y jabón neutro, además de colocar viruta de madera limpia, agua y alimento frescos.

Manipulación

La limpieza de las cajas y la manipulación de las ratas fueron realizadas por la misma persona desde las cruces hasta el término del experimento. Se evitó en lo posible la manipulación de las crías y de la madre durante los primeros 10 días postparto, ya que, si se realizaba un manejo excesivo durante estos días, la hembra podría matar a la camada, o los sistemas neuroendocrinos de las crías se podían ver afectados (Bales *et al.*, 2011). A los 11 días post-nacimiento se les asignó un grupo a las crías machos y se marcaron sobre la cola con plumones indelebles no tóxicos. A partir del día 30 de edad comenzó la manipulación necesaria para el experimento.

Diseño experimental

Las 20 ratas macho fueron divididas de forma aleatoria en dos grupos, el primero de ellos fue expuesto a inhalación de aire y se le denominó grupo control, el grupo 2 fue sometido a una exposición crónica de metilbenceno a partir de los 30 días post-nacimiento:

	GRUPO 1 (CONTROL)	GRUPO 2 (EXPERIMENTAL)
INDIVIDUOS	10 Ratas	10 Ratas
TRATAMIENTO	Inhalación de aire, sin administración de tratamiento	Inhalación de 0.15 g Metilbenceno/100 g PV

Cuadro 2.- Tratamientos, grupo control y grupo experimental.

Exposición a metilbenceno

Una vez al día, los animales fueron expuestos a vapores durante un período de 15 minutos al interior de una cámara de vidrio cerrado herméticamente, cuya capacidad expresada en volumen fue de 2,740 mL de aire mantenido a temperatura ambiente. La exposición a los vapores contenía 15,000 ppm de metilbenceno líquido, equivalente a 54-57 mg de

metilbenceno de grado reactivo (Merck Co., México) por litro de aire. La concentración de metilbenceno deseada se obtuvo mediante la introducción directa de 0,4 mL de metilbenceno líquido en la cámara usando una jeringa graduada (Castilla-Serna *et al.*, 1993).

Las ratas fueron expuestas crónicamente a los vapores de metilbenceno del día 30 de edad y hasta los 60 días de edad, para dar un total de 30 días de tratamiento. El procedimiento se realizó a la misma hora del día, entre las 8:30 am y las 9:30 am durante todo el tratamiento.

Registro poligráfico

Los procedimientos quirúrgicos que se realizaron en el experimento, se llevaron a cabo siete días antes de terminar con la exposición inhalatoria de metilbenceno, a continuación se detallan; los animales incluidos en el grupo control G₁ (n = 10) y los expuestos a metilbenceno inhalado G₂ (n = 10) fueron anestesiados con xilacina (Procin® 2%: 20 mg/1 mL) a una dosis de 10 mg/kg + ketamina (Anesket® 10%: 100 mg/1 mL) a una dosis de 50 mg/kg (figura 7). La combinación de ambos medicamentos se administró por vía intraperitoneal.



Figura 7. Rata en la primera etapa de la anestesia general. Rata a la que se le administro un coctel de anestésicos alfa adrenérgicos y específicos para receptores NMDA, la cual permanecía en un cilindro por un periodo de 2 minutos

Posteriormente fueron colocados en un equipo de cirugía estereotáxica (David Kopf Instruments, Munich), el cual fue calibrado momentos antes de su uso de acuerdo a lo establecido en el atlas de Paxinos y Watson, considerando el ancho, alto y la profundidad (figura 8, 9). Las ratas fueron implantadas con electrodos bipolares de acero inoxidable (Bore, diámetro 0,010 pulgadas, recubierto 0,013 pulgadas, AM Systems, Inc., Carlsborg, WA) en la región de la corteza sensorimotora derecha (2 mm de longitud) (figura 10, 11) con la finalidad de realizar el registro electroencefalográfico (EEG). Los electrodos cuya longitud fue de 50 mm, fueron implantados en los músculos del cuello con el objeto de realizar el registro electromiográfico (EMG). Un tornillo implantado en el cráneo sirvió como punto de referencia. Los electrodos fueron soldados a miniconectores y asegurados al cráneo con acrílico dental. Siete días después de la recuperación postoperatoria, las ratas fueron colocadas en una cámara sonoamortiguada de registro con acceso libre a alimentos y agua bajo condiciones de luz y oscuridad controladas (08:00-20:00 h), y sin restricción de los movimientos. Después de 5 días de habituación, se les realizó un registro del EEG durante 24 h para cada condición experimental G₁, n=10 (NaCl 0.9 %) y G₂ n=10, experimental (1.5 g/Kg de tolueno, i.p 15 min antes del registro).



Figura 8. Calibración de equipo estereotáxico.



Figura 9. Colocación de roedor en equipo de cirugía estereotáxica. Se comenzó a debridar la zona donde será colocado el implante.



Figura 10. Proceso para implantación de electrodos.

Cuando los animales se acostumbraron a estas condiciones ambientales, se les realizó un registro del EEG durante las primeras 24 horas para cada condición experimental. En el momento adecuado, los filtros poligráficos se ajustaron a rangos de entre 0,1 y 30 Hz para EEG en el canal 1 y de 10 a 300 Hz para EMG en el canal 2. En algunos casos, fue necesario usar filtros de línea. El papel usado para el registro poligráfico con tinta fue ajustado a una velocidad de 30 cm/min para obtener registros por periodos de 1 minuto. Se obtuvieron 1440 mediciones para cada una de las ratas incluidas en el estudio, debido a que los registros fueron ininterrumpidos durante 24 horas.

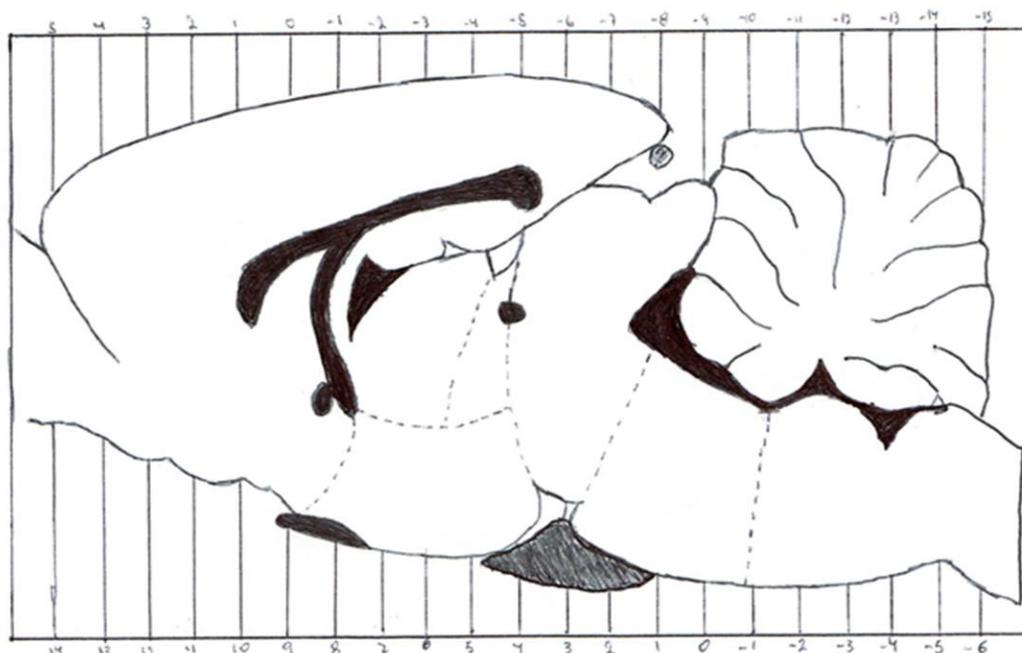


Figura 11. Representación esquemática de las diferentes regiones cerebrales analizadas en coordenadas del diagrama sagital. Pons, mesencéfalo, hipotálamo y striatum (según Paxinos y Watson 1998).

El análisis de los registros poligráficos se realizó de forma visual de acuerdo con los métodos establecidos por Alfaro-Rodríguez y González-Piña (2005). La cuantificación se realizó por un investigador ajeno a los tratamientos (exposición al aire *vs.* metilbenceno). Los registros fueron clasificados como sigue:

- A) Vigilia (V), caracterizada por desincronización del EEG. Durante la fase de actividad, los EEG corticales mostraron un voltaje rápido y bajo. El EMG presento amplitud alta con tono muscular elevado; mientras que los impulsos de las ondas fueron rápidos. La conducta durante la vigilia incluyó; caminar, acicalamiento, comer, y beber; los animales siempre tuvieron los ojos abiertos, incluso cuando estaban quietos.
- B) Sueño de onda lenta (SOL), caracterizado por la presencia de husos de sueño, ondas lentas con un voltaje superior a 75 μ V y una disminución de la tensión EMG. El EMG fue pequeño en amplitud y los impulsos fueron lentos. Las ratas estuvieron tranquilas con los ojos cerrados.
- C) Sueño de Movimientos Oculares Rápidos (sMOR), caracterizado por desincronización del EEG. Durante el sMOR, el EEG cortical mostró un voltaje rápido y bajo. La amplitud de EMG se redujo casi a la isoelectrica línea, lo que indicó una pérdida total de tono muscular, y los impulsos fueron más lentos que en cualquier otra fase. La rata en posición con la cabeza, el tronco en el piso y ojos cerrados.

ANÁLISIS DE DATOS

Los valores expresados como promedio (media \pm error estándar de la media) fueron estadísticamente comparados con una prueba T-student y un nivel de significancia $p<0.001$.

LÍMITE DE TIEMPO

Cuadro 3.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades realizadas	abril	mayo	junio	julio	agosto	septiembre
Capacitación						
• Capacitación y entrenamiento con el uso de distintos equipos	X	X				
Cirugía Estereotáxica	X	X				
EEG	X	X				
Ejecución de la fase experimental		X	X	X		
Monitoreo del análisis		X	X	X		
Determinación de los parámetros del sueño		X	X	X		
Realización de EEG		X	X	X		
Análisis Estadístico				X	X	
Redacción de Resultados					X	
Redacción de tesis					X	
Trámites en el Departamento de Titulación						X

RESULTADOS

Efectos de la exposición crónica al metilbenceno sobre el sueño

Respecto al peso corporal de los animales, no se reportaron diferencias estadísticamente significativas entre los animales del G₁ vs. G₂. Los resultados mostraron que la exposición crónica al metilbenceno alteró la organización de los patrones de sueño. El metilbenceno indujo una disminución en el tiempo total gastado en estado de V y un aumento en el tiempo total gastado en SOL.

Los animales expuestos a metilbenceno pasaron significativamente menos tiempo en el tiempo total gastado en sMOR, permaneciendo despiertos durante las primeras 3 h posteriores al final de los 30 días de exposición al metilbenceno. La cantidad de vigilia disminuyó progresivamente a lo largo de las 24 horas de grabación del sueño. Lo cual demuestra una inhibición completa del tiempo total gastado en SOL durante las primeras 3 horas del día (duración de 189,16±12,8 min). Los patrones de sueño se recuperaron progresivamente, con el tiempo total gastado en SOL reapareciendo en la segunda mitad del día de grabación, cabe señalar que los valores no alcanzan los niveles obtenidos en los animales del grupo control al final de las 24 horas de grabación de sueño (Cuadro 4).

El tiempo total gastado en sMOR fue el más afectado, pues se identificó una completa inhibición de éste durante las primeras horas después de la exposición crónica del metilbenceno. La recuperación progresiva fue observada en las horas posteriores (latencia de 365,17±24,50 min).

La exposición crónica de los animales con el metilbenceno indujo alteraciones en los patrones del sueño. Aunque se produjo una reducción en la cantidad de sueño después de la exposición al metilbenceno, la inhibición del sueño no fue completa porque el tiempo total gastado en SOL estuvo a lo largo de las 3 h del registro respecto al G₁ o control (latencia de 39,89±6,5 min). El despertar disminuyó en aproximadamente 20% en relación con los valores registrados en el grupo control, mientras que el tiempo total de SOL aumentó 25%, y el tiempo total de sMOR se redujo en un 37%.

Cuadro 4. Parámetros del sueño (promedia \pm E.E.M.) registrados durante 24 h (un día) en ratas con exposición crónica a tolueno durante 30 días.

	Grupo 1 Control (n=10)	Grupo 2 Exposición crónica al tolueno (n=10)
V (min)	698.45 \pm 16.1	557.2 \pm 21.0*
SOL (min)	605.33 \pm 18.9	823.34 \pm 38.6*
SOL (duración media; min)	7.25 \pm 0.60	8.15 \pm 0.65
SOL (estado latente; min)	39.89 \pm 6.5	189.16 \pm 12.8**
sMOR (min)	135.45 \pm 7.99	58.84 \pm 4.9*
sMOR(frecuencia)	55.10 \pm 2.1	29.20 \pm 1.9**
sMOR (duración media; min)	2.7 \pm 0.9	1.5 \pm 0.2*
sMOR (estado latente; min)	48.21 \pm 6.8	365.17 \pm 24.50**

V tiempo total de vigilia, SOL tiempo total de Sueño de Onda Lentas, sMOR tiempo total de sueño de Movimientos Oculares Rápidos.

Análisis estadístico con prueba t de student * $p \leq 0.01$, ** $p \leq 0.001$.

DISCUSIÓN

Estudios previos han demostrado que el metilbenceno puede generar interrupciones en los niveles de catecolaminas si se administra vía endovenosa (Arito *et al.*, 1985, Von Euler *et al.*, 1988). Sin embargo, hay algunas diferencias importantes que deben tenerse en cuenta para analizar la relevancia de nuestros resultados. Arito *et al.* (1985) usaron animales cuya administración de metilbenceno fue intraperitoneal. Creemos que este tipo de administración no es coherente con la forma en que se produce la exposición al metilbenceno en el mundo real. El metilbenceno está presente en una amplia variedad de productos industriales, como pinturas, barnices, esmaltes de uñas y algunos adhesivos. También se usa en la fabricación de gasolina y en procesos industriales de carbón. Por lo tanto, el compuesto es inhalado principalmente por los trabajadores industriales siguiendo un patrón de exposición crónico. Además, en algunos países subdesarrollados, el metilbenceno se usa como droga inhalable principalmente por jóvenes adictos. Por lo tanto, a diferencia de Arito, en este trabajo se administró metilbenceno por inhalación para imitar una forma común por la cual el metilbenceno ingresa al organismo.

En el caso de Von Euler *et al.* (1988), midieron monoaminas y estimaron niveles de catecolaminas en terminales nerviosas, aunque usaron HPLC y midieron los niveles de catecolamina a nivel de la corteza frontal y la sustancia negra, no realizaron ninguna evaluación sobre el efecto del metilbenceno y los patrones del sueño. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la exposición de animales a vapores de metilbenceno de manera crónica, altera significativamente varias etapas de la vigilia y de su comportamiento (reposo, temblor, abducción de las patas traseras y cola levantada).

Los resultados de esta investigación sugieren que los cambios en sMOR no ocurren como compensación después de un aumento en los niveles totales de SOL, sino más bien como el resultado del desglose de los mecanismos que participan en la generación y mantenimiento del sMOR. Se ha propuesto que el sMOR es generado por neuronas colinérgicas localizadas en la protuberancia, y moduladas por 5-HT (Kayama y Koyama 2003). En el estudio se observó una disminución significativa de PS en el sueño total durante el proceso de grabación y un aumento en SWS en ratas expuestas crónicamente a los vapores de

metilbenceno. Estas ratas también mostraron altos niveles de 5-HT en la protuberancia. Se ha propuesto que 5-HT está relacionado con la regulación del SOL (Steriade, 2004).

Está bien documentado que DA influye en la liberación de acetilcolina (Stengard 1995, Millan *et al.*, 2007, Tan y Bullock, 2008). En suma, la privación de sueño produce una elevación en el SOL relacionada con un aumento en los niveles de 5-HT (Alfaro-Rodríguez *et al.*, 2006, Senthilvelan *et al.*, 2006ab). En el presente estudio, se identificó un aumento en los niveles de 5-HT en regiones cerebrales con las mayores poblaciones neuronales de células serotoninérgicas y un aumento en la cantidad total de SOL. Algunas de las consecuencias sobre las alteraciones del sueño han sido previamente discutidas por Oniani (1977). Ha analizado algunas consecuencias de las interrupciones del sueño en humanos. Encontramos un aumento en 5-HT en la protuberancia con una disminución concomitante de este neurotransmisor en el hipotálamo. Estos resultados indican que los mecanismos serotoninérgicos juegan un papel importante en algunos de los efectos de la inhalación de metilbenceno en ratas, pero no pueden explicar la ausencia del desarrollo de la tolerancia posterior a la exposición crónica al metilbenceno.

El hipotálamo es una estructura considerada como el sitio primario que los mamíferos tienen como parte de la regulación de su reloj circadiano y se sabe que está bajo control directo del sistema 5-HT (Glass *et al.*, 2003). Por lo tanto, es probable que la velocidad del metabolismo del metilbenceno difiera con diferentes tiempos de exposición debido al ritmo circadiano de la actividad oxidasa. Estos registros sugieren que el ritmo circadiano de la actividad enzimática es una de las causas de las diferencias circadianas en la susceptibilidad a la toxicidad después de la exposición al metilbenceno (Pouzet, 2002).

La exposición subcrónica a 40 ppm de metilbenceno en ratas provocó la sensibilización a la narcosis inducida por metilbenceno y al ruido, y disminuyó la actividad en las crías. Ciertos informes han proporcionado evidencia respecto a que los cambios adversos en las funciones neuroconductuales y neuroquímicas pueden ser el resultado de alteraciones en la transmisión de DA y 5-HT (Berenguer *et al.*, 2003, 2004). En relación con nuestros resultados, otros estudios han demostrado que la inhalación de metilbenceno induce estados

de comportamiento anómalos que se asemejan al síndrome serotoninérgico en ratas como el reposo, temblor, abducción de las patas traseras, cola levantada, acicalamiento y rigidez.

El aumento del SOL y el déficit del sMOR observado en este estudio sugieren una mejora de los procesos inhibidores que inducen la excitación después de la exposición a solventes como el metilbenceno. Nuestros resultados son congruentes con estudios que sugieren que los resultados de sincronización EEG son el resultado de la activación de la inhibición de las neuronas a nivel talamocortical (Steriade *et al.* 1990, Contreras y Steriade, 1995). La exposición crónica al metilbenceno induce cambios en los sistemas serotoninérgicos y dopaminérgicos con consecuencias en el sueño y posiblemente en otras áreas conductuales como la memoria de trabajo (Wilkość *et al.*, 2010).

Se concluye que la exposición al metilbenceno interrumpe el ciclo de sueño-vigilia al afectar la respuesta catecolaminérgica en las áreas cerebrales relacionadas con el sueño. Estas observaciones tienen implicaciones importantes para la salud humana porque el sueño es relevante para el aprendizaje y la memoria. Es necesario realizar estudios adicionales para dilucidar los mecanismos que subyacen a la alteración del sueño en trabajadores y personas jóvenes que están expuestas a tales solventes.

LITERATURA CITADA

- Alfaro-Rodríguez A, González-Piña R, González-Maciél A, Arch-Tirado E. 2006. Serotonin and 5-hydroxy-indole-acetic acid contents in dorsal raphe and suprachiasmatic nuclei in normal, malnourished and rehabilitated rats under 24 h of sleep deprivation. *Brain Res.* 1110(1):95-101.
- Anderson, C.E., Loomis, G.A. 2003. Recognition and prevention of inhalant abuse. *Am. Fam. Physicia.* 68: 869-874.
- Arito, H., Tsuruta, H., Nakagaki, K., Tanaka, S. 1985. Partial insomnia, hyperactivity and hyperdipsia induced by repeated administration of toluene in rats: their relation to brain monoamine metabolism. *Toxicology.* 37(1-2): 99-110.
- Baghdoyan, H.A., Lydic, R. 2002. Neurotransmitters and neuromodulators regulating sleep, in sleep and epilepsy: The Clinical Spectrum (Bazil, C., Malow, B. and Sammaritano, M. eds.) Elsevier Science, and New York, pp 17-44.
- Bale, A.S., Tu, Y., Carpenter-Hyland, E.P., Chandler, L.J., Woodward, J.J. 2005. Alterations in glutamatergic and gabaergic ion channel activity in hippocampal neurons following exposure to the abuse inhalant toluene. *Neuroscience.* 130:197-206.
- Beebe KR., Lee KA. 2007. Sleep Disturbance in Late Pregnancy and Early Labor. *J Perinat Neonat Nurs.* 23(2): 103-108.
- Benignus V A, Muller KE, Barton CN, Bittikofer JA. 1981. Toluene levels in blood and brain of rats during and after respiratory exposure. *Toxicol. App. Pharmacol.* 61: 326.
- Berenguer P, Soulage C, Fautrel A, Péquignot JM, Abraini JH. 2004. Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic combined exposure to toluene at 40 ppm and noise at 80 dB-A in rats. *Physiol. Behav.* 81(3):527-34.
- Berenguer P, Soulage C, Perrin D, Péquignot JM, Abraini JH. 2003. Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic exposure to 40 ppm toluene in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 74(4):997-1003.
- Bruckner JV, Peterson RG. 1981. Evaluation of toluene and acetone inhalant abuse. I. Pharmacol and Pharmacodynamics. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 61: 27.

- Calderón-Guzmán D, Espitia-Vázquez I, López-Domínguez A Hernández-García E et al. 2005a. Effect of toluene and nutritional status on serotonin, lipid peroxidation levels and Na^+/K^+ -ATPase in adult rat brain. *Neurochem Res.* 30(5):619-24.
- Calderón-Guzmán, D., Hernández-Islas, J. L., Espitia-Vázquez, et al. 2005b. Effect of toluene and cresols on $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase, and serotonin in rat brain. *Reg. Toxicol. Pharm.* 41:1–5.
- Castilla-Serna L, Barragán-Mejía MG, Rodríguez-Pérez RA, García Rillo A, Reyes-Vázquez C. 1993. Effects of acute and chronic toluene inhalation on behavior, monoamine metabolism and specific binding (3H-serotonin and 3H-norepinephrine) of rat brain. *Arch Med Res.* 24(2):169-76.
- Chen, H.H., Lee, Y.F. 2002. Neonatal toluene exposure selectively alters sensitivity to different chemoconvulsant drug in juvenile rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 73: 921-927.
- Chien-Lu, L., Yi-Ruu, L., Ming-Huan, C.H., Hwei-Hsien, C.H. 2007. Effects of toluene exposure during brain growth spurt on GABA a receptor-mediated functions in juvenile Rats. *Toxicol Sci.* 95(2): 443-451.
- Contreras D, Steriade M. 1995. Cellular basic of EEG slow rhythms: a study of dynamic corticothalamic relationships. *J Neurosci.* 15: 604–622
- Echeverria, D., Fine, L., Langolf, G., Schork, T., Sampaio, C. 1991. Acute behavioral comparisons of toluene and ethanol in human subjects. *British Journal of Industrial medicine.* 48: 750-761.
- Ehlen JC, Grossman GH, Glass JD. 2000. In vivo resetting of the hamster circadian clock by 5-HT7 receptors in the suprachiasmatic nucleus. *J Neurosci.* 21(14):5351-7.
- Eriksson L., Eden S., Holst J., Lindstedt G., Von Schultz B. 1989. Diurnal variations in thyrotropin, prolactin and cortisol during human pregnancy. *Gynecol Obstet Invest.* 27:78-83.

- Gerasimov M, Schiffer W K, Mastellar D, Ferrieri R, Alexoff D, Dewey S I. 2002. Toluene inhalation produces regionally specific changes in extracellular dopamine. *Drug and Alcohol Dependence*. 65: 243-251.
- Glass JD, Grossman GH, Farnbauch L, DiNardo L. 2003. Midbrain raphe modulation of nonphotic circadian clock resetting and 5-HT release in the mammalian suprachiasmatic nucleus. *J Neurosci*. 23(20):7451-60.
- Glowinski J, Iversen LL. 1966. Regional studies of catecholamines in the rat brain. Disposition of 3H-norepinephrine, 3Hdopamine and 3H-DOPA in various regions of the brain. *J Neurochem*. 13:655-669.
- Grave de Peralta-Menéndez R, González-Andino S, Gómez-González C.M. 2004. Comparison of algorithms for the localization of focal sources: Evaluation with simulated data and analysis of experimental data. *International Journal of Bioelectromagnetism*. 39(8): 748-756.
- Grave de Peralta-Menéndez R, González-Andino S. 2002. Comparison of algorithms for the localization of focal sources: Evaluation with simulated data and analysis of experimental data. *International Journal of Bioelectromagnetism*.
- Guillen J. 2012. FELASA guidelines and recommendations. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 51(3):311-321.
- Gutiérrez, R., Vega L. 1999. Informe preliminar de un programa para disminuir los daños asociados con la inhalación de tolueno en los niños de la calle. *Salud Mental*, Número especial. 75-78.
- Hobson JA., McCarley RW., Wyzinski PW. 1975. Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science*. 189:55-58.
- Kayama Y, Koyama Y. 2003. Control of sleep and wakefulness by brainstem monoaminergic and cholinergic neurons. *Acta Neurochir Suppl*. 87:3-6.
- Kollmus H, Post R, Brielmeier M, Fernandez J, Fuchs H, McKerlie C, et al. 2012. Structural and functional concepts in current mouse phenotyping and archiving facilities. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 51(4):418-435.

- Krahn LE, Silber MH., Morgenthaler TI. 2010. Atlas of Sleep Medicine. CRC Press, United States of America, Pp 30.
- Krishnan V., Collop NA. 2006. Gender differences in sleep disorders. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. 12:383–389.
- Laguno S.N., Concalves, P.M.L., Machado A.A.F., Jose A: M., Harumi T.M., Moreira P.E. 2015. Polysomnography assessment of sleep and wakefulness in premature newborns. *Rev Bras Enferm*. 68(6):799-805.
- Lantz G, Grave de Peralta-Menéndez R, González S, Michel CM. 2001. Noninvasive localization of electromagnetic epileptic activity. II. Demonstration of sublobar accuracy in patients with simultaneous surface and depth recordings. *Brain Topogr*. 14: 139-47.
- Lantz G, Grave de Peralta-Menéndez R, Spinelli L, Seeck M, Michel CM. 2003. Epileptic source localization with high density EEG: how many electrodes are needed? *Clin Neurophysiol*. 114: 63-9.
- LeBel, CP, Schatz RA. 1989. Effect of toluene on rat synaptosomal phospholipid methylation and membrane fluidity. *Biochem. Pharmacol*. 38:4005–4011.
- Lebel CP, Schatz RA. 1990. Altered synaptosomal phospholipid metabolism after toluene: possible relationship with membrane fluidity, Na⁺,K⁺-adenosine triphosphatase and phospholipid methylation. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 253: 1189–1197.
- Lee KA., Landis C., Chasens ER., Dowling G., Merritt S., Parker KP., Redeker N., Richards KC., Rogers AE., Shaver JF., Umlauf MG., Weaver TE. 2004. Sleep and chronobiology: recommendations for nursing education. *Nurs Outlook*. 52:126–133.
- Lucchini R. 2000. Mechanism of neurobehavioral alteration. *Toxicol Lett*. 112:35-39.
- Lydic R., Baghdoyan HA. 1998. Handbook of Behavioral State Control: Cellular and Molecular Mechanisms. CRC Press, United States of America, Pp 143-152.
- Markov D., Goldman M. 2006. Normal sleep and circadian rhythms: Neurobiologic mechanisms underlying sleep and wakefulness. *Sleep Medicine Clinics*. 7(3):417-426.

- Masri R, Trageser J C, Bezdudnaya T, Li Y, Keller A. 2006. Cholinergic regulation of the posterior medial thalamic nucleus. *J Neurophysiol.* 96(5):2265-73.
- Mathis J, Hess CW, Bassetti C. 2007. Isolated mediotegmental lesion causing narcolepsy and rapid eye movement sleep behaviour disorder: a case evidencing a common pathway in narcolepsy and rapid eye movement sleep behaviour disorder. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 78(4):331-2.
- Millan MJ, Di Cara B, Dekeyne A, Panayi F, De Groote L, Sicard D, Cistarelli L, Billiras R, Gobert A. 2007. Selective blockade of dopamine D (3) versus D(2) receptors enhances frontocortical cholinergic transmission and social memory in rats: a parallel neurochemical and behavioural analysis. *J Neurochem.* 100(4):1047-61.
- Minguez, J. 2003. Tecnología de Interfaz Cerebro – Computador. Universidad de Zaragoza, España, Departamento de Informática e Ingeniería de Sistemas.
- National Research Council Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 2011. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Press WNA, editor.
- Ogata M, Kira S, Hasegawa T, Watanabe S. 1974. Distribution of toluene in mouse tissues. *Jpn. J. Ind Health.* 16, 23.
- Okun ML., Roberts JM., Marsland AL., Hall M. 2009. How Disturbed Sleep May Be a Risk Factor for Adverse Pregnancy Outcomes A Hypothesis. *Obstetrical and gynecological survey.* 64(4): 273–280.
- Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. 1993. Guide for the care and use of experimental animals. *Can Council Animal Care* 1:211.
- Oniani TN. 1977. On the functional significance of sleep. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 37: 223–246.
- Pouzet B. 2002. SB-258741: a5-HT7 receptor antagonist of potential clinical interest. *CNS Drug Rev.* 8(1): 90-100.
- Qui C., Enquobahrie D., Frederick IO., Abetew D., Williams MA. 2010. Glucose intolerance and gestational diabetes risk in relation to sleep duration and snoring during pregnancy: a pilot study. *BMC Womens Health.* 10: 17.

- Regal A.R., Amigo M.C., Cebrián E. 2009. Sueño y mujer. *Rev Neurol.* 49 (7): 376-382.
- Riegel AC, Ali SF, Torinese S, French ED. 2004. Repeated exposure to the abuse inhalant toluene alters levels of neurotransmitters and generates peroxynitrite in nigrostriatal and mesolimbic nuclei in rat. *Ann N Y Acad Sci.* 1025: 543-51.
- Romero-Fernández, W., Batista-Castro, Z., De Lucca, M., Ruano, A., García-Barceló M., Rivera-Cervantes, M., García-Rodríguez, J., Soledad Sánchez-Mateos. 2016. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 288-299.
- Rose M., Sanford A., Thomas C., Opp MR. 2001. Factors altering the sleep of burned children. *Sleep.* 24(1):45-51.
- Salín-Pascual R. 2009. *Trastornos del dormir.* Mc Graw Hill, México, Pp 37-48.
- Sanford LD, Silvestri AJ, Ross RJ, Morrison AR. 2001. Influence of fear conditioning on elicited ponto-geniculo-occipital waves and rapid eye movement sleep. *Arch Ital Biol.* 139:169-83.
- Santamaría J. 2003. Mecanismos y función del sueño: su importancia clínica. Servicio Neurología. Hospital Clínico de Barcelona, España. http://apps.elsevier.es/watrermark/ctl_servlet?
- Senthilvelan M, Ravindran R, Samson J, Devi RS. 2006a. Serotonin turnover in different duration of sleep recovery in discrete regions of young rat brain after 24 h REM sleep deprivation. *Brain Dev.* 28(8):526-8.
- Senthilvelan M, Ravindran R, Samson J, Devi RS. 2006b. Serotonin turnover in discrete regions of young rat brain after 24 h REM sleep deprivation. *Neurochem Res.* 31(1):81-4.
- Seron-Ferre M., Ducsay CA., Valenzuela GJ. 1993. Circadian rhythms during pregnancy. *Endocr Rev.* 14:594-609.
- Shouse MN, Siegel JM. 1992. Pontine regulation of REM sleep components in cats; integrity of the pedunculo-pontine tegmentum (PPT) is important for phasic events but unnecessary for atonia during REM sleep. *Brain Res.* 571, 50-63.
- Spiegel K., Folleniw M., Simon C., Saini J., Ehrhart J., Brandenberger G. 1994. Prolactin secretion and sleep. *Sleep.* 17:20-27.

- Steingard K, Höglund G, Ungstedt U. 1994. Extracellular dopamine levels within the striatum increase during inhalation exposure to toluene: a microdialysis study in awake, freely moving rats. *Toxicology Letters*. 71: 245-255.
- Stengard K. 1995. Tail pinch increases acetylcholine release in rat striatum even after toluene exposure. *Pharmacol. Biochem and Behav*. 52(2):261-264.
- Steriade M. 2004. Slow-wave sleep: serotonin, neuronal plasticity, and seizures. *Arch Ital Biol*. 2004. 142(4):359-67.
- Steriade, M. 1992. Basic mechanisms of sleep generation. *Neurology (Suppl. 6)*, 9-17.
- Steriade M, McCarley RW. 1990. Neuronal control of the sleep-wake status. In Steriade, M and McCarley R W, (Eds). *Brainstem control of Wakefulness and sleep*, Plenum, New York, 1990. Pp 326-353.
- Steriade M, Contreras D. 1995. Cellular basic of EEG slow rhythms: a study of dynamic corticothalamic relationships. *J. Neurosci*, 15:604-622.
- Steriade M, Gloor P, Llinas RR, López DA, Silva FH, Mesulam MM. 1990. Basic mechanisms of cerebral rhythmic activities. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol*. 76:481-508.
- Takeuchi, Y., Hisanga, N. 1977. The neurotoxicity of toluene: EEG changes in rats exposed to various concentrations. *British Journal of Industrial medicine*. 34: 314-324.
- Tan CO, Bullock D. 2008. A dopamine-acetylcholine cascade: Simulating learned and lesion-induced behavior of striatal cholinergic interneurons. *J Neurophysiol*. PMID: 18715897.
- Teplan M. 2002. Fundamental of EEG measurement. *Meas. Sci. Rev*. 2: 1-11
- Van Cauter E. 1990. Diurnal and ultradian rhythms in human endocrine function: a minireview. *Horm Res*. 34:45-53.
- Von Euler, G., Fuxe, K., Hansson, T., Ogren, S.O., Agnati, L.F., Eneroth, P., Härfstrand, A., Gustafsson, J.A. 1998. Effects of cronic toluene exposure on central monoamine and peptide receptors and their interactions in the adult male rat. *Toxicology*. 14; 52(1-2): 103-26.

- Wiłkość M., Hauser J., Tomaszewska M., Dmitrzak-Węglarz M., Skibińska M., Szczepankiewicz A., Borkowska A. 2010. Influence of dopaminergic and serotonergic genes on working memory in healthy subjects. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 70: 86–94.
- Williams, J.M., Stanford, D., Steketee, J.D. 2005. Effects of repeated inhalation of toluene on ionotropic GABA_A and glutamate receptor subunit levels in rat brain. *Neurochem. Int.* 46: 1-10.
- Yamawaki, S., Segawa, T., Sarai, K. 1982. Effects of acute and chronic toluene inhalation on behavior and (3H)-serotonin binding in rat. *Life Sci.* 7; 30(23):1997-2002.
- Zeng T., Mott C., Mollicone D., Sanford LD. 2012. Automated determination of wakefulness and sleep in rats based on non-invasively acquired measures of movement and respiratory activity. *J Neurosci Methods.* 204(2): 276–287.

GLOSARIO

NACL: por sus siglas, cloruro de sodio

EEG: por sus siglas Electroencefalograma

SOL: Sueño de Ondas Lentas

SP: Sueño Paradójico

V: Vigilia

DA: Dopamina

NA: Noradrenalina

5HT:

5-HIAA: Ácido 5-Hidroxindolacético

NMOR: Sueño sin movimientos oculares

MOR: Sueño paradójico o sueño de movimientos oculares rápidos

SNC: Sistema nervioso central

EMG: Electromiograma

EOG: Electrooculograma

EKG: Electrocardiograma

RPSG: Registro Polisomnográfico

EOGizq: Electroodos oculares, ojo izquierdo

EOGder: Electroodos oculares ojo derecho