



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Efectos de diferentes ciclos de luz-oscuridad sobre la actividad motora del lacértido *Gallotia galloti*.

Manuel Jiménez García

Grau de Biologia

Any acadèmic 2016-17

DNI de l'alumne: 41573870J

Treball tutelat per Dr. Mourad Akaarir El Ghourri

Departament de Biologia, Biologia Fonamental i Ciències de la Salut, Física, Química

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Sistema circadiano, ciclo sueño-vigilia, órgano parietal.

Agradecimientos

Quisiera agradecer la ayuda y el apoyo del equipo de Neurofisiología, del Departamento de Biología de la UIB, en especial al Dr. Mourad Akaarir El Ghourri, por darme las directrices necesarias para la elaboración de este proyecto.

También quisiera dar las gracias a mis padres María del Carmen García y Manuel Jiménez, por su apoyo incondicional, y por permitirme la oportunidad de cursar un grado universitario. Sin ellos no sería lo que soy.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	3
1. RESUMEN.....	5
2. ABSTRACT.....	5
3. INTRODUCCIÓN.....	6
3.1 Ritmos circadianos.....	6
3.2 Cronobiología a lo largo de la historia.....	8
3.3 Carácter endógeno de los ritmos circadianos.....	9
3.4 Ritmo sueño-vigilia.....	10
3.4.1 El sueño como comportamiento.....	10
3.4.2 El sueño electrofisiológico.	11
3.4.3 Regulación del sueño.....	14
3.4.4 Control circadiano del sueño.....	14
3.4.5 Control homeostáticos del sueño.....	15
3.5. Neuroanatomía de los reptiles.....	15
3.5.1 Órgano parietal.....	17
3.5.2 Regulación de las células pineales: Mecanismos de transducción...20	
4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	22
5. MATERIAL Y MÉTODO.....	24
6. WORK PLAN.....	27
7. PRESUPUESTO.....	28
8. RESULTADOS ESPERADOS.....	28
9. BIBLIOGRAFÍA.....	29

1. RESUMEN

A lo largo de la historia se ha comprobado que la vida está gobernada en gran parte por períodos cíclicos. Tanto los organismos unicelulares como los pluricelulares más complejos presentan actividades biológicas repetitivas a lo largo del tiempo. El responsable de estas actividades cíclicas es el sistema circadiano. Dentro de éste, se encuentra el ciclo sueño-vigilia, el más estudiado de los ritmos circadianos, y en el cual se centra el presente trabajo.

El ciclo sueño-vigilia es primordial para comprender el comportamiento animal, ya que está relacionado con el ciclo actividad-inactividad de los organismos. Para entender un poco más esta relación, el siguiente proyecto pretende llevar a cabo el estudio del efecto de los cambios del ciclo luz-oscuridad en reptiles de la especie *Gallotia galloti*, teniendo en cuenta que estas modificaciones alterarán la actividad comportamental de los especímenes, y con ello, el ciclo sueño-vigilia.

A su vez, se pretende observar la influencia del órgano parietal en el ciclo sueño-vigilia. Este órgano es un elemento sensorial fotorreceptor en reptiles, el cual interviene en la regulación de los ritmos circadianos. Para llevarlo a cabo se cubrirá dicho órgano, para así poder comprobar el efecto sobre la actividad motora y el ciclo sueño-vigilia del animal.

2. ABSTRACT

Throughout history it has been proven that life is governed largely by cyclical periods. Both the unicellular organisms and the more complex multicellular organisms have repetitive biological activities over time. Cyclic activities are responsible for the circadian system. Within this, there is the sleep-wake cycle, the most studied of circadian rhythms, and on which the present document is centered.

The sleep-wake cycle is essential for understanding animal behavior, since it is related to the activity-inactivity cycle of organisms. To understand a little more about this connection, the following project aims to the study of the effect of light and darkness cycle changes on the reptile *Gallotia galloti*, considering that these modifications alter the behavioral behavior of the specimens, And with it, the sleep-wake cycle.

At the same time, it is sought to observe the influence of the parietal organ in the sleep-wake cycle. This organ is a photoreceptor sensory element in reptiles, which intervenes in the regulation of circadian rhythms. To carry out, will cover this organ, so as to be able to check the effect on the motor activity and the sleep-wake cycle of the animal.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Ritmos circadianos

La máxima estabilidad termodinámica en sistemas físicos complejos siempre implica la producción de ciclos [Prigogine, I. 1997]. Además, está ampliamente reconocido que la adaptación al medio mejora con las estrategias cíclicas [Aschoff, J. 1964] y, sobre todo, los ritmos permiten un mejor uso de los recursos del ambiente y una distribución más eficaz del territorio. Los animales soportan una fuerte presión para encontrar un nicho ecológico único que minimice la depredación y la competencia, lo cual entre otros factores se consigue con la distribución cíclica del tiempo. Se han realizado experimentos con los que se ha demostrado que los mutantes genéticamente arrítmicos se ven desplazados por aquellos que muestran el comportamiento rítmico natural de su especie, lo cual es una prueba directa de su valor adaptativo y, por lo tanto, de la ventaja evolutiva [DeCoursey, PJ. 1997 y Emerson KJ. 2008].

Tanto los organismos unicelulares como los pluricelulares más complejos de los reinos vegetal y animal presentan actividades biológicas repetitivas a lo largo del tiempo, con una periodicidad definida. Algunas de estas actividades cíclicas están relacionadas con los cambios periódicos producidos por la rotación y la traslación de la Tierra alrededor del Sol, como son los ciclos de luz y oscuridad diarios y la variación cíclica del día y de la noche a lo largo del año. Este patrón bifásico de actividad y reposo ha sido ampliamente documentado en especies no mamíferas como peces, aves, reptiles e insectos [Tobler, I. 2000]. La capacidad de adaptación de los organismos a estas variaciones periódicas externas y, por tanto, de modificar su fisiología y comportamiento, ha resultado clave para la supervivencia de las especies. El continuo reajuste de los parámetros fisiológicos frente a las perturbaciones del medio externo se define con el término de *homeostasis*, propuesto por Cannon en 1928. Este concepto implica la presencia de un circuito de retroalimentación de carácter regulador o restaurador del valor de la variable. La misma naturaleza de estos procesos reguladores lleva implícita la tendencia a la oscilación.

El responsable de la generación y sincronización del proceso circadiano y del resto de ritmos de 24 h es el sistema circadiano. Este tiene tres componentes principales:

a) Relojes circadianos (generadores de los ritmos diarios); el más importante es el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo, con el que colaboran una gran variedad de osciladores periféricos.

b) Vías de entrada (responsables de la sincronización ambiental), que son la principal vía fótica, la cual se inicia en las células ganglionares de la retina directamente fotosensibles, y a través del tracto retinohipotalámico se proyecta en el NSQ y en la glándula pineal.

c) Ritmos manifiestos o salidas del sistema, que son todos aquellos ritmos controlados por el NSQ que podemos medir en el organismo.

El marcapasos principal, el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo, coordina la actividad de numerosos osciladores periféricos mediante señales nerviosas, hormonales (ritmos de melatonina y cortisol) y de temperatura central. Para que los ritmos del NSQ se mantengan sincronizados con el ciclo ambiental de 24 h, es necesario que el ciclo de luz-oscuridad sincronice diariamente su actividad. Otros sincronizadores (zeitgebers) como los ritmos de actividad, los contactos sociales y la alimentación colaboran, en menor medida que la luz, en la sincronización del NSQ. Como resultado de la actividad de este y de los osciladores periféricos aparecen los diferentes ritmos, como el de sueño-vigilia. La melatonina es un elemento clave en la organización circadiana. Su ritmo diario constituye un excelente ejemplo del funcionamiento integrado del sistema circadiano. La síntesis de melatonina durante la noche está directamente controlada por la actividad del NSQ, es inhibida por la luz nocturna y su ritmo plasmático contribuye a sincronizar la actividad de numerosos osciladores periféricos y, a su vez, ejerce un efecto de retroalimentación que estabiliza la actividad nerviosa del NSQ.

El circuito que lleva a cabo lo comentado anteriormente se le denomina “haz retinohipotalámico”. En la retina encontramos un circuito formado por fotorreceptores, las neuronas ganglionares y las neuronas bipolares. Los primeros producen una respuesta eléctrica al estímulo producido por la radiación luminosa, y a su vez, liberan una sustancia química, la cual modifica la actividad de las neuronas bipolares. Esta modificación, afecta a las neuronas ganglionares, las cuales tienen capacidad fotosensitiva gracias a la melanopsina, y producen una proyección a regiones del sistema nervioso como el NSQ, formando así el haz comentado anteriormente [Rol & Madrid, 2006].

Cabe destacar, que dentro del sistema circadiano existen osciladores secundarios, tales como el córtex cerebral, el hígado, el riñón..., los cuales pueden producir oscilaciones circadianas [Rol & Madrid, 2006].

3.2. Cronobiología a lo largo de la historia

Los fenómenos de ritmicidad biológica son conocidos por el hombre desde épocas remotas. De acuerdo con Ritchie Ward, Aristóteles describió la hinchazón de los ovarios del erizo de mar durante la luna llena, y Cicerón mencionaba que las poblaciones de ostras y otros moluscos cambian en número según las fases lunares. En 1657, Santorio Santorio especificó que las variaciones en su peso corporal y la turbidez de su orina ocurrían de forma mensual [Gruart et al., 2002].

Posteriormente, Antoine Lavoisier explicó la existencia de variaciones diurnas en el peso de un sujeto sano. El naturalista Karl Linné realizó una de las primeras aplicaciones prácticas de los ritmos biológicos. Basándose en la regularidad de la apertura y cierre de los pétalos de diversas flores, Linné creó en 1745 un mapa de flores para el reloj de jardín. Cada especie de flor seleccionada se abría o cerraba a una hora determinada, desde las seis de la mañana hasta las seis de la tarde, de manera que al comprobar qué especie floral tenía los pétalos abiertos o cerrados se podía saber la hora [Gruart et al., 2002].

Las primeras evidencias científicas de un ritmo biológico fueron proporcionadas por el astrónomo francés Jean Jacques d'Ortous DeMarian en 1729 [JJ, 1972], que informó de los movimientos foliculares de la planta Mimosa púdica. Este investigador demostró que los movimientos de apertura y cierre de las hojas de esta planta se mantenían en condiciones de oscuridad constante durante varios días consecutivos [Aza, 2015].

Pero no fue hasta la primera mitad del siglo XX, cuando se creó un nuevo campo de la ciencia: la llamada «Cronobiología». Algunos de los primeros estudios se realizaron por un ecologista Colin S. Pittendrigh en la mosca de la fruta *Drosophila*. Este científico, gracias al estudio de los ritmos biológicos de este insecto, descubrió los principios básicos en los que se basa la cronobiología moderna [Aza, 2015].

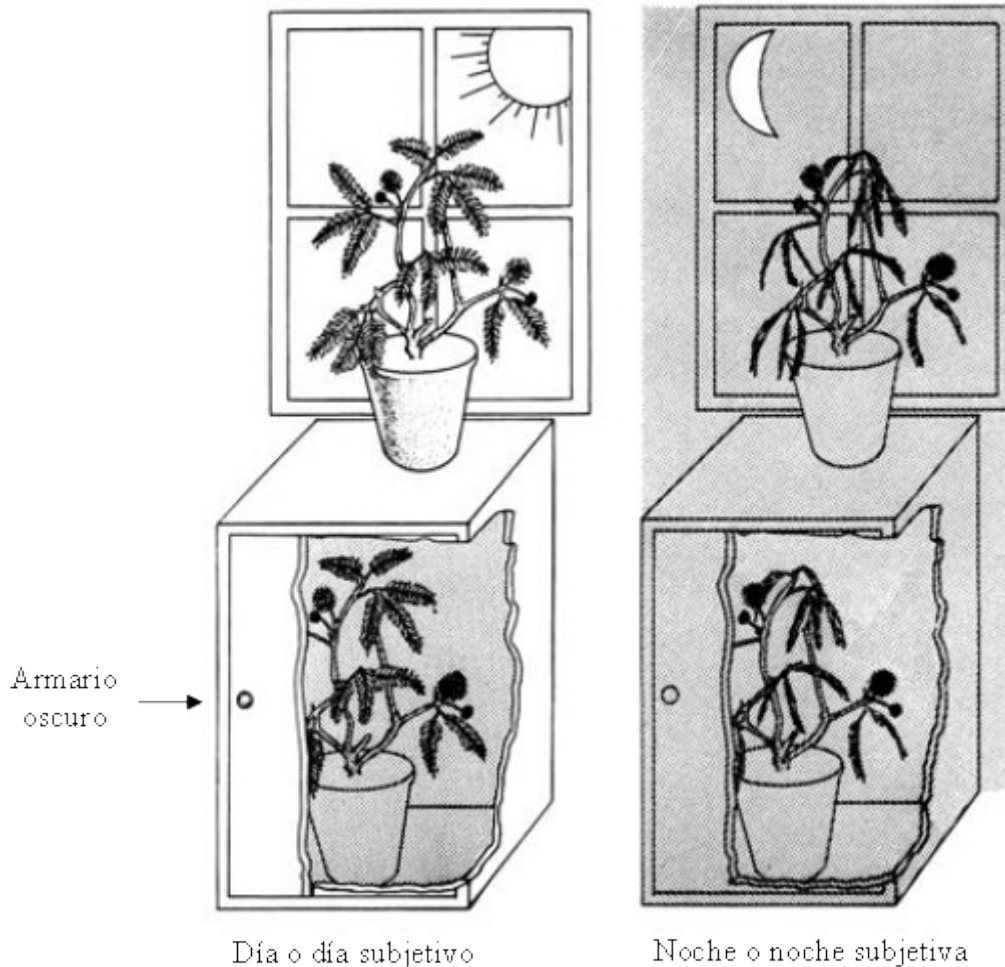


Ilustración 1. Experimento llevado a cabo por el astrónomo Jean Jacques d’Ortous DeMarian en 1729 [Golombek, 2002].

3.3. Carácter endógeno de los ritmos circadianos.

La gran importancia del reloj circadiano, y con ello, de sus ritmos, es su característica como endógeno. De esta forma, la estructura biológica del propio individuo modifica las oscilaciones del reloj. Con ésto, no significa que el ambiente no sea influyente, pero no es determinante en la iniciación del reloj interno.

Son numerosos los experimentos que se han realizado sobre el carácter endógeno de los ritmos circadianos. Para ello, es necesario aislar a un organismo de los cambios ambientales, y mantenerlo en un ambiente constante. En el momento en el cual se mantiene un animal en unas condiciones constantes de temperatura, luz, alimento, etc., se eliminan las modificaciones del ambiente sobre el reloj interno, y permite observar los ritmos circadianos

propios de su conducta y fisiología. Cuando se presenta en este ambiente constante, se considera que está en condiciones de “curso libre” o “free running”, presentando su ritmo endógeno sin alteraciones, denominado científicamente como “Tau” [Rol & Madrid, 2006].

El tau siempre presenta valores próximos a las 24 horas. El reloj interno se “pone en hora” cada día, ya que hay animales en los cuales el reloj se adelanta cada día, y en otros se atrasa. Por lo tanto, es necesario esa puesta a punto. Cuando a un animal se le eliminan las variables ambientales, es posible comprobar que prácticamente sigue manifestando sus ritmos circadianos. Pero con el tiempo, estos ritmos pueden sufrir cierto desfase [Rol & Madrid, 2006].

3.4. Ritmo sueño-vigilia

De los ritmos circadianos conocidos, el ciclo sueño-vigilia es el más estudiado por su papel fundamental para entender el comportamiento animal. Así pues, se podría considerar que el sueño y la baja actividad son equivalentes, de la misma forma que lo son la actividad y la vigilia [Akaâr, 2007].

La existencia de los estados de actividad antes descritos puede servir para definir el sueño desde un punto de vista comportamental.

3.4.1. El sueño como comportamiento

Pieron en 1913 propuso los tres primeros:

- Ausencia o disminución de movimientos corporales voluntarios (Reposo motor);
- Umbrales sensoriales elevados;
- Duración limitada y fácil reversibilidad del estado.

En 1973 Flanigan propuso el siguiente:

- Posturas estereotipadas durante el descanso.

Bruce Durie incorporó dos más en 1981:

- Recurrencia circadiana;
- Zonas específicas para actuar como dormitorio.

El último fue propuesto por Tobler en 1985:

- Estado regulado, ya que presenta estados de privación y de saciedad.

De acuerdo con esta definición del sueño, existen muchos animales que tienen sueño comportamental. Entre ellos pueden incluirse numerosos invertebrados y, con pocas excepciones, todos los vertebrados. Lo que determina que exista este sueño es, evidentemente,

un elevado nivel de complejidad en el comportamiento, o lo que es lo mismo, en el Sistema Nervioso; animales sin cerebro o con cerebro muy reducido no podrán expresar sueño con el mínimo de las características exigidas por la definición antes propuesta [Akaârir, 2007].

3.4.2. El sueño electrofisiológico

Si a través de criterios conductuales y fisiológicos se puede definir el sueño y distinguirlo de un simple reposo, los criterios electrofisiológicos son los que han permitido establecer que el sueño de aves y mamíferos, no es un estado homogéneo; dentro de él ocurren fases o etapas que tienen manifestaciones bioeléctricas propias. Las diferentes etapas definidas bioeléctricamente han podido correlacionarse con distintos niveles de profundidad del sueño y con variaciones específicas de otras variables fisiológicas [Akaârir, 2007].

Desde el punto de vista electrofisiológico del sueño y sus etapas, se utilizan los registros poligráficos, que consisten en el registro simultáneo de una serie de variables indicadoras del sueño. El principal indicador del sueño es el registro de la actividad eléctrica cerebral o electroencefalograma (EEG); además, para tener una buena definición de las distintas etapas del sueño [Rechtschaffen y Kales, 1968] es imprescindible contar con el registro de los movimientos oculares o electrooculograma (EOC), de la actividad de la musculatura antigravitatoria (Electromiograma o EMG) y la actividad cardíaca (ECG). Los registros poligráficos son, por lo tanto, imprescindibles para el estudio del sueño ya que a través de ellos se pueden objetivar y catalogar sus distintas etapas y de esta forma conocer su duración y organización secuencial tanto en condiciones normales como patológicas [Akaârir, 2007].

Encontramos distintas fases, como ejemplo el sueño de onda lenta (NREM) y el sueño paradójico (REM), que, en el caso del ser humano, se alternan de 4 a 6 veces durante la noche. A través del registro gráfico, se pueden distinguir las diferentes fases del sueño [Akaârir, 2007]:

a. Fase 0: Vigilia

EEG: ondas rápidas de bajo voltaje por encima de los 13 Hz (actividad beta) cuando el individuo está activo o tiene los ojos abiertos. Aparición del ritmo alfa (8-12Hz) cuando el individuo se mantiene despierto en reposo sensorial y psíquico con los ojos cerrados. Este ritmo es especialmente notorio en los registros de regiones occipitales, pero sólo se observa en el hombre y los primates.

EOG: ausencia de movimientos oculares en reposo.

EMG: tono muscular tónico bien apreciable en los músculos anti-gravitatorios.

b. Fase 1: Adormecimiento

EEG: actividad con ondas rápidas con bajo voltaje entre las que aparecen ondas más lentas de pequeño voltaje dentro de la banda de frecuencia theta (4-7Hz); a este patrón de EEG se denomina ritmo mixto.

EOG: los ojos suelen presentar movimientos de rotación lenta (pendulares).

EMG: tono muscular notablemente reducido respecto a la fase 0, pero presente.

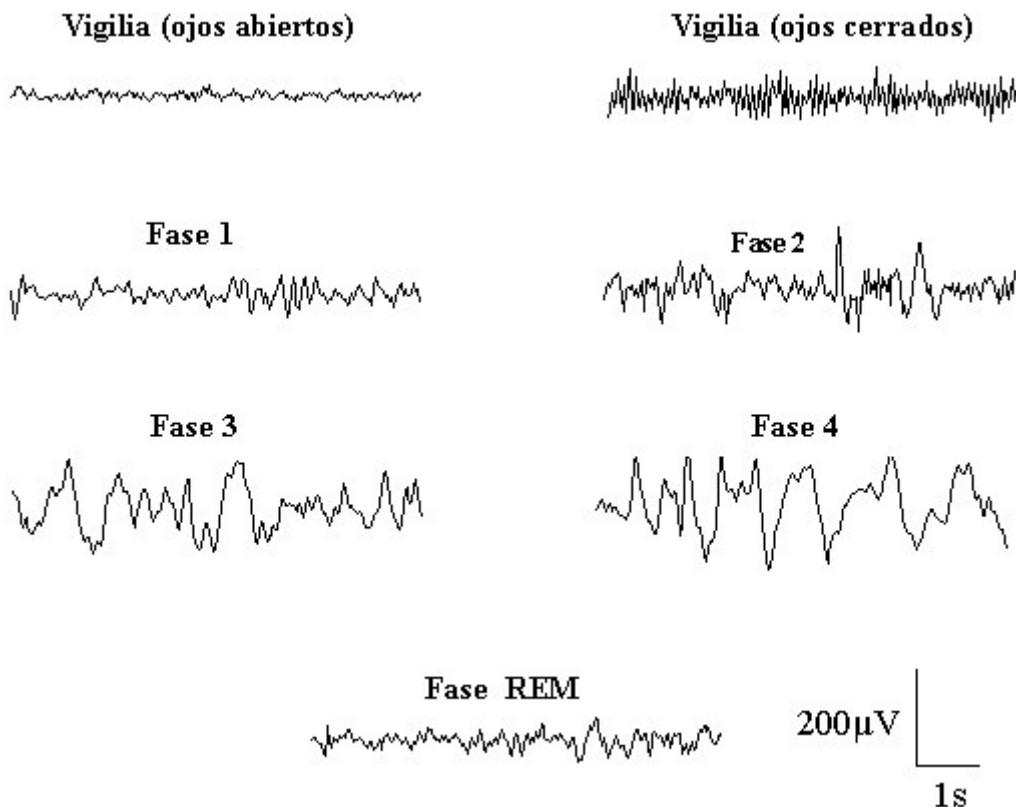


Ilustración 2. Patrones electroencefalográficos de las distintas fases del sueño humano [Akaârîr, 2007].

c. Fase 2: Sueño ligero

EEG: aparición en el registro de dos o más eventos especiales llamados husos de sueño y/o complejos K. Los husos de sueño son brotes de ondas con una frecuencia de unos 14 Hz (banda sigma) que duran alrededor de un segundo y que se ven especialmente en el registro de las regiones centrales de la calota (no se debe confundir con el ritmo α). El nombre del huso alude a que las ondas al inicio y final del brote tienen menor voltaje que en el centro,

de ahí su forma de “huso”. Los complejos K son ondas bifásicas de gran voltaje que aparecen especialmente desarrolladas también en los registros de las regiones centrales; suelen darse al principio o final de un huso pero también pueden presentarse de forma aislada.

EOG: ausencia de movimientos oculares rápidos.

EMG: tono muscular disminuido pero presente.

d. Fase 3-4: Sueño profundo

EEG: presencia de ondas lentas de gran voltaje dentro de la banda delta (0,3-3Hz) que ocupan al menos el 20% del trazado (si las ondas lentas ocupan más del 50% del trazado es fase 4, pero actualmente no se suelen catalogar de forma separada las fases 3 y 4; de ahí su nombre).

EOG: ausencia de movimientos oculares rápidos.

EMG: tono muscular muy disminuido, incluso a veces ausente.

e. Fase REM: Sueño paradójico

EEG: actividad prácticamente indistinguible del “ritmo mixto” de la fase 1. En el vértex se producen con frecuencia ondas de 4 a 6 Hz de morfología típica en diente de sierra. En animales experimentales se registran una serie de espigas que aparecen simultáneamente en la corteza occipital, en el tálamo y en el puente, de donde han recibido su nombre: ponto-genículo-occipitales (PGO).

EOG: aparición de movimientos oculares rápidos, aislados o más frecuentemente agrupados en salvas (los movimientos oculares rápidos son fenómenos fásicos de esta etapa del sueño ya que no están presentes de una forma continua en el registro).

EMG: tono muscular nulo, atonía total. De forma fásica (en general coincidiendo con una gran densidad de movimientos oculares rápidos) pueden aparecer sacudidas musculares de localización anárquica. Si ocurre alguna de estas sacudidas en los músculos del mentón (de los que se está obteniendo el registro), en el trazado pueden verse momentos en el que se recupera esporádicamente el tono muscular durante breve tiempo. La recuperación de una forma tónica de la actividad de los músculos antigravitatorios ocurre sólo cuando se acaba la fase REM y el individuo pasa a otra etapa de sueño o se despierta.

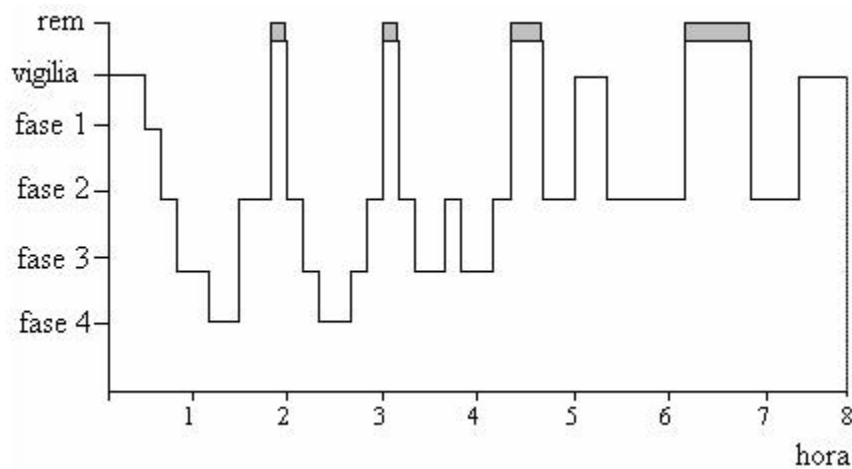


Ilustración 3. Ejemplo de un hipnograma mostrando la distribución de las diferentes fases del sueño durante una noche de un adulto joven y sano [Akaârir, 2007].

3.4.3. Regulación del sueño

El sueño sufre importantes modificaciones dependiendo de factores endógenos y exógenos. Entre estos últimos destacan la ingesta, los estímulos sensoriales, el ejercicio, etc. Entre los endógenos, la organización y la cantidad de sueño dependen de factores circadianos y homeostáticos [Borbély, 1982].

3.4.4 Control circadiano del sueño

El ciclo sueño-vigilia es el más notorio de nuestros ritmos circadianos. Este ritmo actúa como mecanismo regulador del sueño y funciona con propiedades análogas a las de un reloj. El cuerpo se rige por este reloj endógeno o marcapasos biológico que pauta los tiempos de actividad y reposo. La regulación circadiana supone que, independientemente del tiempo pasado en estado de vigilia, la necesidad de dormir varía de acuerdo a la hora del día en que nos encontremos. En los individuos con un patrón sueño-vigilia coincidente con el ciclo noche-día, la necesidad más intensa de dormir aparece en la franja nocturna de las 3:00-4:00 de la madrugada. El indicador básico del factor circadiano es la temperatura corporal, que presenta una fuerte correlación con la propensión al sueño.

3.4.5. Control homeostático del sueño

El sueño y la vigilia son estados interdependientes que presentan mecanismos fisiológicos para mantener un equilibrio dinámico entre sus proporciones. Cada estado posee lazos de retroalimentación propios: la vigilia tiene controles homeostáticos que regulan la ingesta, la defensa, la reproducción, etc., y el sueño los tiene para regular la profundidad, el ascenso en los umbrales sensoriales, la posición corporal propia de la especie, la localización del dormitorio preferido, etc.

Existe pues una regulación homeostática entre estos estados que se pone especialmente de manifiesto en situaciones de privación de sueño. En estas condiciones, se expresan dos procesos reguladores, como son la presión de sueño y el sueño de recuperación o rebote. La presión de sueño es la necesidad imperiosa de dormir a medida que progresa la privación o crece el periodo de vigilia. El sueño de rebote es aquel que, tras la privación, se manifiesta en exceso y que compensa la pérdida del mismo. La vigilia previa está también directamente relacionada con la intensidad del sueño de recuperación, intensidad que se expresa por un aumento de la potencia de las ondas δ del sueño NREM profundo. Además, no sólo aumenta de forma generalizada potencia δ en el electroencefalograma, se ha demostrado también que la potencia δ aumenta específicamente en las áreas corticales que han tenido una mayor actividad durante la vigilia previa [De Andrés et al., 2011].

Aunque el sueño y la vigilia tienen circuitos neuronales propios para su generación, también es cierto que, en la vigilia, una mayor actividad neuronal conlleva un mayor metabolismo y se ha demostrado que éste causa una acumulación proporcional de factores metabólicos que pueden influir en el sueño. La acumulación de estos factores metabólicos hasta un nivel crítico estaría implicada en la iniciación del sueño, específicamente al promover el sueño NREM; durante el sueño, estos metabolitos se reducirían a niveles basales [Borbély, 1982]. Entre las moléculas que cumplen estas condiciones se encuentra la adenosina.

3.5 Neuroanatomía de los reptiles

Conviene distinguir entre sinápsidos y diápsidos. El primer término incluye todos los mamíferos existentes, los cuales tienen un arco óseo detrás del ojo en el cráneo. Los diápsidos incluyen todos los reptiles vivos y las aves, y están caracterizados por dos agujeros en el lado lateral del cráneo, siendo aberturas temporales superior e inferior [Rial et al., 2010].

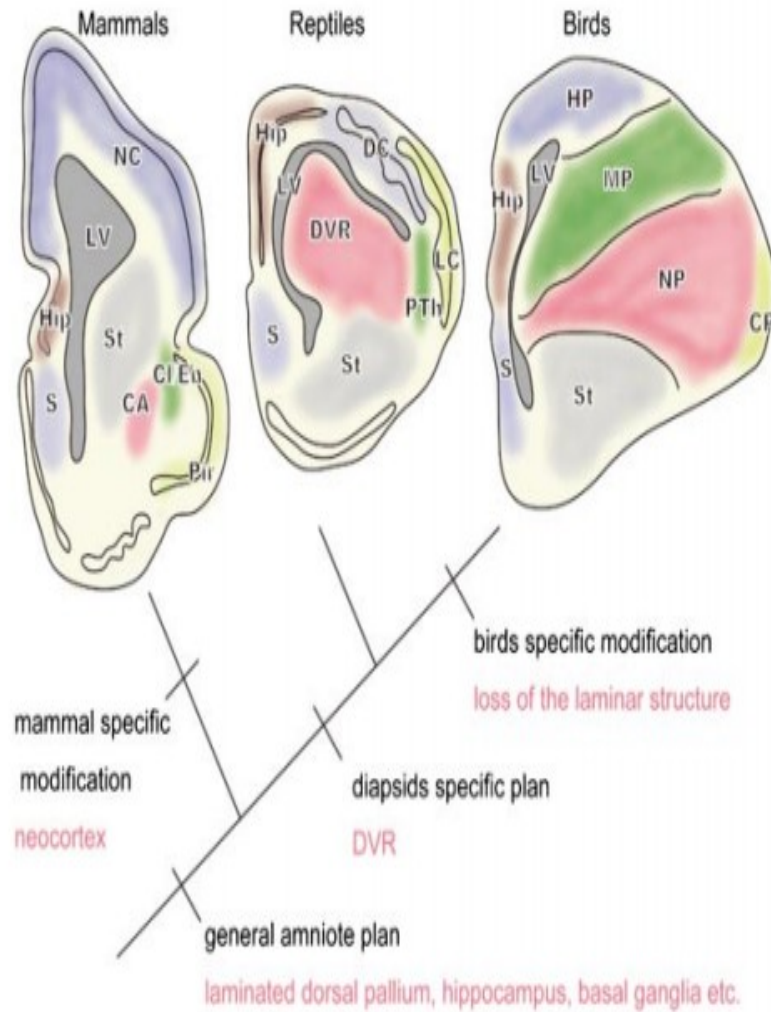


Ilustración 4. Comparación de las estructuras telencefálicas en amniotes. Cada color indica posibles regiones homólogas, aunque la homología punto a punto está aún en debate. Hip, hipocampo; NC, neocórtex; S, septum; Cl/En, claustrum/ corteza endopiriforme; Pir, corteza piriforme; DVR, cresta ventricular dorsal; DC, corteza dorsal; LC, corteza lateral; Pth, engrosamiento pallial; HP, hiperpallium; MP, mesopallium; NP, nidopallium; CP, cortex piriformis; LV, ventrículo lateral. [Nomura et al., 2013].

Concretando en los reptiles, éstos poseen una estructura simple, laminada, en forma de hoja en la parte dorsal del telencéfalo, la cual se cree que se hereda de una ancestralidad común en amniotes. El telencéfalo muestra una organización anatómica única, la parte dorsal de éste, el palio, contiene dos componentes: la corteza y la cresta ventricular dorsal (DVR). En el caso de la corteza se subdivide en las áreas medial, mediodorsal, dorsal y lateral. En el caso de la DVR, se divide en la parte anterior y posterior. La corteza reptiliana consta de estructuras laminares de tres capas. En las especies reptilianas se observa una capa una capa densa de células densamente apretadas y capas externas plexiformes e internas. El neocórtex

de mamíferos, en contraste con el reptiliano, está formado por una estructura laminar de seis capas, compuesta de distintas matrices de subtipos neuronales [Nomura *et al.*, 2013].

Comparando el desarrollo laminar entre reptiles y mamíferos, se comprueba existen diferencias. La mayoría de las partes de la corteza reptiliana se desarrollan de forma externa, de manera que las primeras neuronas se asientan en la capa cortical superficial, mientras que las que nacen más tarde se asientan en la capa cortical profunda. Basándose en las similitudes trilaminares y los patrones de migración neuronal, se cree que la corteza reptiliana podría ser un prototipo del neocórtex de mamíferos [Marin-Padilla, 1978].

3.5.1. Órgano parietal



Ilustración 5. Señalización del órgano parietal en un individuo de la especie *Gallotia galloti*.

Uno de los órganos que hay que tener en cuenta al tratar el ciclo vigilia-sueño en reptiles es el parietal, un órgano sensorial fotorreceptor. El ojo parietal puede estar dotado de una pequeña córnea, un cristalino y un área formada por células fotorreceptoras que conectan mediante sinapsis con las células ganglionares próximas que, a su vez originan un nervio que va hasta el sistema nervioso central [Kardong, 1998].

El primitivo complejo pineal era un órgano fotorreceptor. En la mayoría de los ciclóstomos, los peces, los anfibios y los reptiles se ha podido demostrar experimentalmente la naturaleza fotorreceptora del complejo pineal. Las células fotorreceptoras del complejo

pineal son alargadas, tienen aspecto columnar y poseen una prolongación apical especializada. Estas células conectan con su región basal y mediante sinapsis con las células ganglionares próximas. A partir de estas últimas se origina el nervio pineal por el que los impulsos viajan hasta la habénula y hacia otras regiones del encéfalo (Kardong, 1998).

En referencia al sistema circadiano, el órgano pineal tiene un papel importante. A través de la pinealectomía, proceso quirúrgico por el cual se extirpa la glándula pineal, se ven los efectos como cambios marcados en los períodos de curso libre y arritmias en lagartos. Es importante destacar que la hormona pineal, la melatonina, desempeña un papel importante en el sistema circadiano [Underwood, 1989].

En la especie *Sceloporus occidentalis* se han llevado a cabo diversos estudios realizando la pinealectomía. Tanto en periodos de luz como de oscuridad, la pinealectomía causa cambios en el período de actividad, así como cambios en la cantidad de actividad diaria. El cegamiento o tapado del ojo parietal también altera el período del ritmo de curso libre de la actividad. La administración continua de melatonina a través de cápsulas subcutáneas provoca un alargamiento significativo del período del ritmo de actividad en lagartos pinealectomizados y/o cegados, que muestran que la melatonina ejerce su acción en sitios extrapineales y extraoculares [Underwood, 1981].

Los resultados indican que el ojo parietal, y posiblemente los ojos, actúan como dispositivos de acoplamiento o como marcapasos circadianos dentro de un sistema multioscilandor. La melatonina puede funcionar como un mensajero químico entre el ojo parietal y el resto del sistema circadiano. [Underwood, 1981]

A lo largo de la filogenia ha sufrido diversas modificaciones que han supuesto la transformación gradual de un sistema directamente fotosensible, a otro regulado indirectamente por la información fótica recibida de los ojos [Rol & Madrid, 2006].

El tipo celular principal de la glándula pineal lo constituyen los pinealocitos, células que pueden pertenecer a tres categorías: verdaderos fotorreceptores pineales, fotorreceptores pineales modificados y pinealocitos en sentido estricto. A medida que se avanza en la escala filogenética los fotorreceptores pineales, similares a los conos y bastones de la retina, dieron paso a los pinealocitos verdaderos que constituyen una célula neuroendocrina típica de mamíferos. A pesar de las grandes diferencias existentes entre los diferentes tipos celulares todos ellos son capaces de sintetizar melatonina. No obstante, la coexistencia de fotorreceptores, fotorreceptores modificados y pinealocitos en un ciclóstomo como la lamprea, indica que todos estos tipos celulares pudieron evolucionar en paralelo [Rol & Madrid, 2006].

En mamíferos, la glándula pineal ha perdido la capacidad de detectar la luz directamente, pero todavía responde a la luz y a la oscuridad gracias a que recibe una compleja y tortuosa conexión neuronal desde los ojos [Rol & Madrid, 2006].

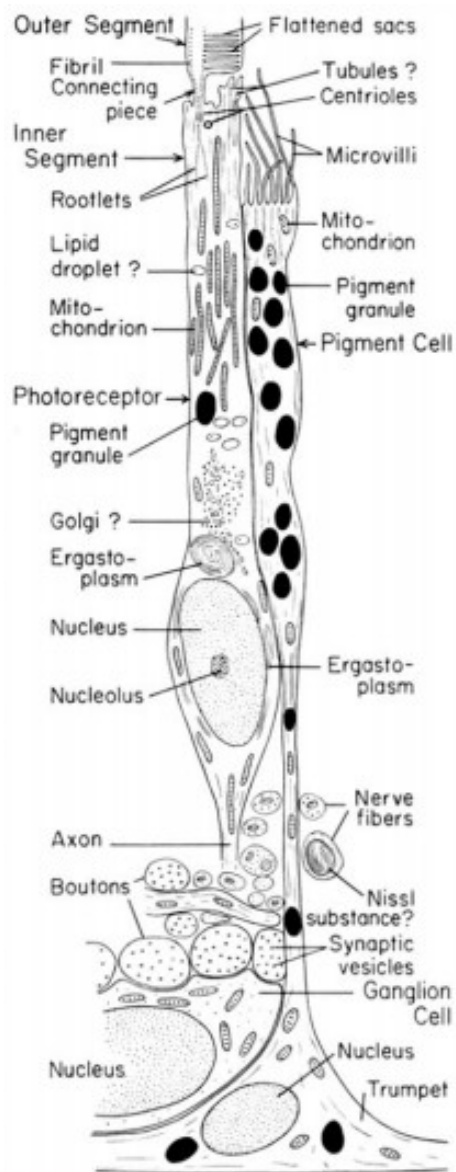


Ilustración 6. Estructura de la retina del ojo parietal de la especie *Sceloporus occidentalis* [Eakin & Westfall 1960]

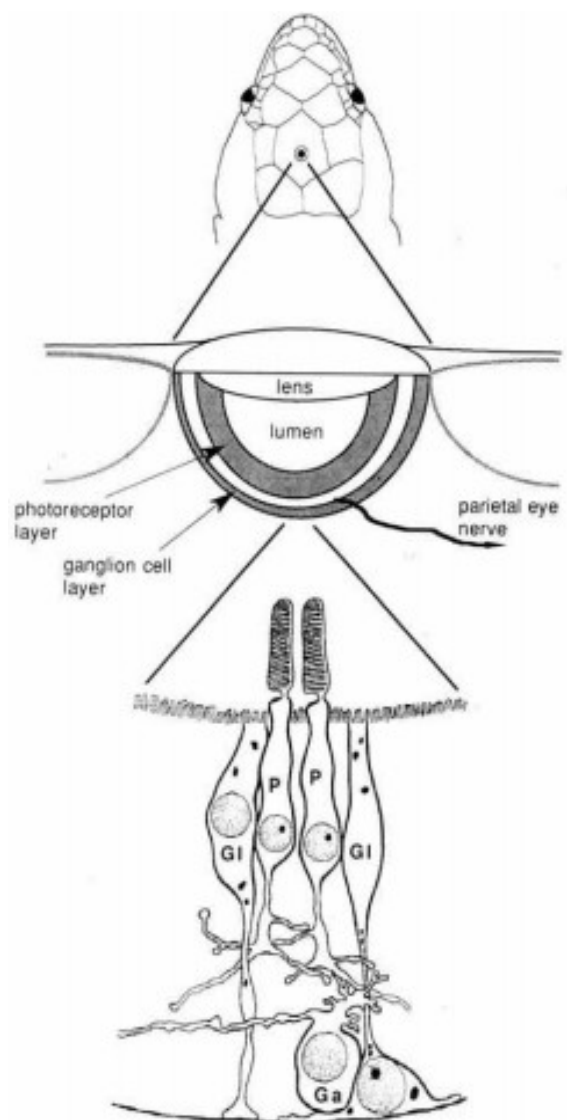


Ilustración 7. El ojo parietal de los lagartos está localizado en un pequeño foramen entre los huesos parietales. La lente está justo debajo de una cornea transparente. Entre la lente y la retina se encuentra el lumen. La retina tiene una capa plexiforme donde se procesan las acciones de los fotorreceptores (P) y las células

3.5.2. Regulación de las células pineales: Mecanismos de transducción

Una vez vista la anatomía del órgano fotorreceptor, es necesario la evolución filogenética en los mecanismos de transducción de la señal que se percibe a través de él. En la posterior imagen se puede observar cómo se regula la actividad fotoperiódica de las células pineales en diferentes especies.

En el caso de peces, anfibios y algunos reptiles la luz actúa directamente sobre fotorreceptores pineales, induciendo hiperpolarización e inhibición del marcapasos intrapineal. Durante la noche, al desaparecer la señal inhibidora, aumenta la actividad del enzima N-acetiltransferasa (NAT) y, consecuentemente, la síntesis y secreción de melatonina [Hernández, 1992].

En aves la luz inhibe la actividad NAT directamente al actuar sobre el marcapasos intrapineal, e indirectamente al actuar a través de la retina sobre el núcleo supraquiasmático (NSQ). Esta vía induce la liberación de noradrenalina (NA) y la producción de AMPc en la célula pineal, lo que causa inhibición de la actividad NAT. Durante la noche, la desaparición de las influencias inhibitoras permite el incremento de la actividad NAT y la producción de melatonina [Hernández, 1992].

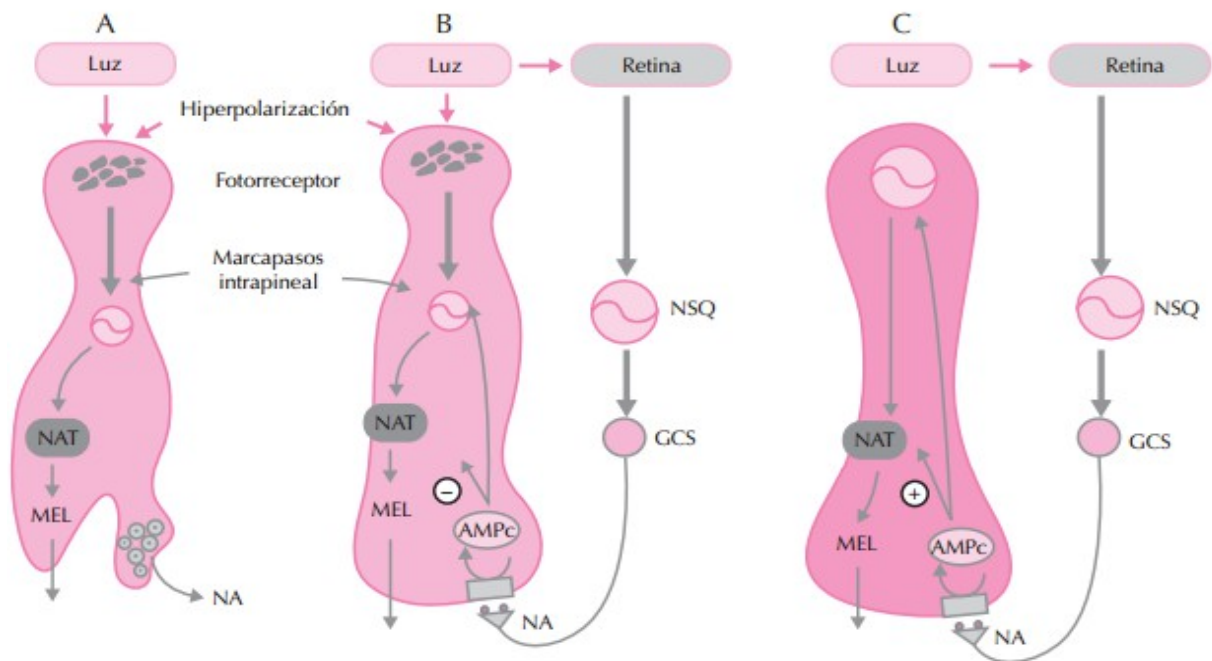


Ilustración 8. Representación gráfica de la regulación fotoperiódica de las células pineales en diferentes especies. (A) Peces, reptiles y anfibios; (B) Aves; (C) Mamíferos [Hernández, 1992].

En mamíferos, la glándula pineal ya no es directamente sensible a la luz, y la información fotoperiódica se transmite exclusivamente a través de la retina, el NSQ y las terminaciones noradrenérgicas simpáticas. La NA liberada durante la noche estimula la producción de AMPc, incrementando la actividad NAT y estimulando la producción nocturna de melatonina, además de actuar a nivel del núcleo celular y regular cíclicamente la expresión de ciertos genes. (Nótese que el AMPc intracelular ejerce efectos diferentes según la especie, inhibiendo la actividad NAT en las aves y estimulándola en los mamíferos.) [Hernández, 1992].

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Tal como fue indicado en la introducción, el patrón bifásico de actividad y reposo ha sido ampliamente documentado en especies no mamíferas como peces, aves, reptiles e insectos [Tobler, I. 2000]. La capacidad de adaptación de los organismos a estas variaciones periódicas externas y, por tanto, de modificar su fisiología y comportamiento, ha resultado clave para la supervivencia de las especies. Dentro de esta capacidad de adaptación y reajuste de las variables fisiológicas se encuentran los ritmos circadianos, regulados por el sistema circadiano.

De los ritmos circadianos conocidos, el ciclo sueño-vigilia es el más estudiado por su papel fundamental para entender el comportamiento animal. Así pues, se podría considerar que el sueño y la baja actividad son equivalentes, de la misma forma que lo son la actividad y la vigilia [Akaârir, 2007]. Numerosos estudios han demostrado que una de las variables que modifica este ciclo es el ritmo de luz-oscuridad.

En el caso de los reptiles, se ha podido demostrar experimentalmente la naturaleza fotorreceptora del complejo pineal. Este órgano tiene un papel importante en la regulación del sistema circadiano. Una pinealectomía provoca cambios marcados en los períodos de curso libre y arritmias en lagartos.

Por lo anteriormente citado, las hipótesis en las cuales se centra el proyecto son las siguientes:

- Los cambios en el ritmo de luz-oscuridad producen desajustes en la actividad motora del lacértido *Gallotia galloti*.
- El reptil *Gallotia galloti* presenta un sistema circadiano endógeno capaz de reordenarse después de sufrir una desincronización.
- Al cubrir el ojo parietal, se bloquearía la llegada de la estimulación lumínica ambiental al núcleo supraquiasmático, lo que en teoría produciría un desajuste aún más pronunciado en el ritmo actividad-inactividad.
- En el caso de que no se produzca esta desincronización tan pronunciada, podemos considerar que hay otra u otras vías (por ejemplo la vía retinotalámica) que sincronizan el ritmo actividad-inactividad.

Para verificar las hipótesis, los objetivos consisten en observar:

- Los efectos de diferentes ritmos de luz-oscuridad sobre la actividad motora del lacértido *Gallotia galloti*. Para ello los especímenes serán acomodados en jaulas individuales y vigilados las 24 horas, modificando las horas de luz-oscuridad.
- La importancia del órgano pineal en la regulación del ciclo actividad-inactividad en esta especie. Para llevarlo a cabo, a todos los especímenes se les cubrirá dicho órgano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

En este proyecto se utilizarán 20 individuos de la especie *Gallotia galloti*, reptil del orden Squamata, de la familia Lacertidae. Serán de ambos sexos, con un peso medio de 40 gramos, y de edad indeterminada. Esta especie es endémica de Tenerife y La Palma. El Gobierno Autonómico Canario autorizó su captura y el transporte hacia la UIB. Para su captura se emplearon trampas con tomate como cebo.

En el laboratorio, cada lagarto será introducido en una jaula con sensores infrarrojos fotoeléctricos centrados bajo cada una. En estas jaulas se podrán mover libremente. Las condiciones iniciales del hábitat serán de 14 horas de luz y 10 de oscuridad, con una temperatura constante de 27°C. En cuanto al alimento, se les proporcionará una dieta de papilla de fruta, verdura y carne, además de agua.

Metodología

Una vez los 20 individuos estén instalados en sus respectivas jaulas, se les observará y se registrará el movimiento y el comportamiento durante 10 semanas. Para ello, contaremos con los ya mencionados sensores infrarrojos fotoeléctricos debajo de cada jaula. Estos sensores detectan mediante haces de luz los movimientos de los animales. Las interrupciones que ocasionará cada individuo al moverse en el haz de luz se registrarán mediante un equipo de transmisión, y serán enviadas al ordenador para ser analizado posteriormente.

Para tener una mayor seguridad del movimiento y la actividad de los animales, cada jaula tendrá una cámara capaz de detectar el movimiento, así como de grabarlos en todo momento. De esta manera, se podrá observar si el animal está en reposo o durmiendo.

Las 10 semanas en las cuales se basa el proyecto estarán divididas en dos partes:

- Una primera parte formada por las primeras 5 semanas, en las cuales se irán modificando semanalmente las horas del ciclo de luz-oscuridad.

- La segunda parte del proyecto consistirá en realizar el mismo procedimiento, pero esta vez tapando el órgano parietal de los lagartos, para así comprobar el efecto que tiene éste en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Para tapar el órgano se rasará sobre la base de éste, y se utilizará una resina llamada Duralay, la cual no permitirá que el órgano lleve a cabo su

función fotorreceptora. La resina se preparará a partir de un polvo y un líquido, los cuales se mezclarán para formar la pasta que se le aplicará al órgano parietal.

Los ciclos de luz-oscuridad en cada parte del proyecto son los siguientes:

1. Ciclo de 14 horas de luz y 10 de oscuridad (LO).
2. Ciclo de luz continua (LC).
3. Ciclo de 14 horas de luz y 10 de oscuridad (LO).
4. Ciclo de oscuridad continua (OC).
5. Ciclo de 14 horas de luz y 10 de oscuridad (LO).

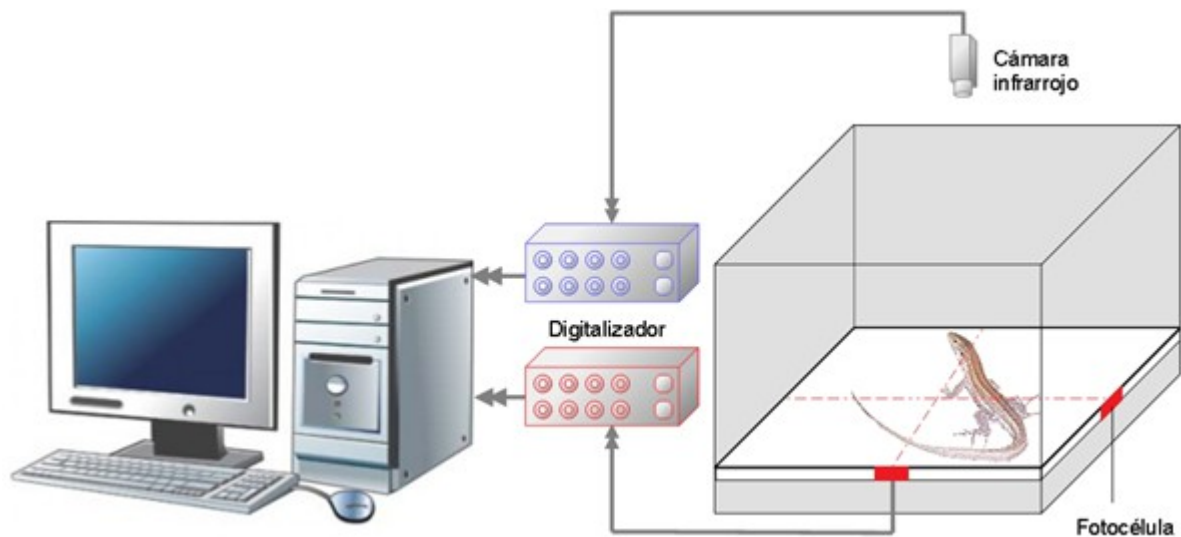


Ilustración 9. Representación de una jaula individual con el sensor fotocelular, la cámara infrarroja y procesadores que envían la información al ordenador.

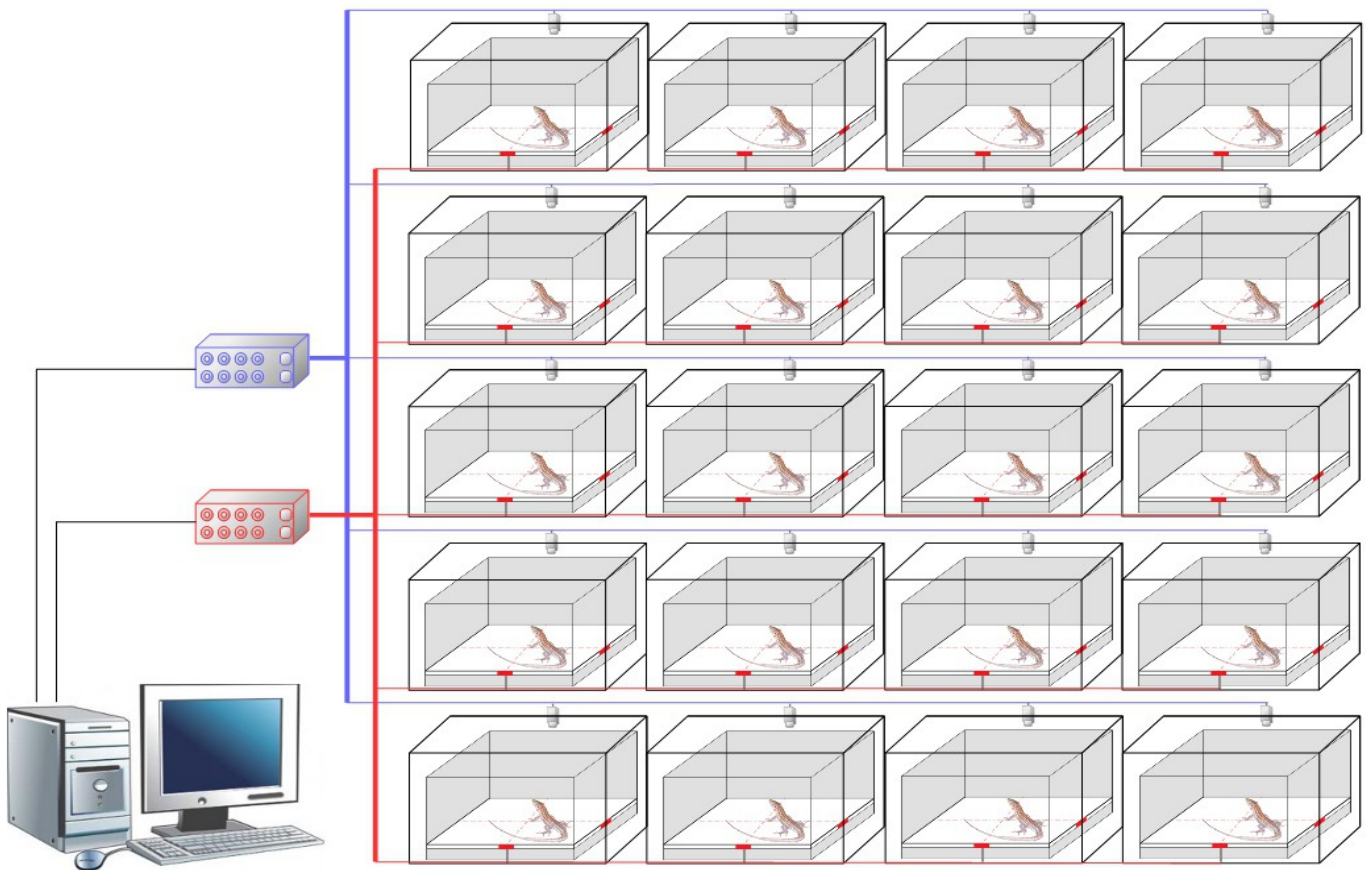


Ilustración 10. Representación de las 20 jaulas, cada una con su sensor fotocelular y su cámara de infrarrojos. Todas ellas conectadas a digitalizadores encargados de enviar la información al ordenador.

Análisis de los datos

Una vez recogidos los datos de actividad/inactividad gracias a los sensores (fotocélulas) y las grabaciones de las cámaras infrarrojo, se llevará a cabo:

- el análisis de los ritmos circadianos mediante el programa **Circadin®**
- el análisis estadístico mediante programas como SPSS o Origin 5.0.

WORK PLAN

La duración del proyecto será de 11 semanas, desde el montaje de los hábitats hasta el análisis de los datos extraídos. El primer día se montará el hábitat y se introducirán los especímenes.

En la sexta semana se iniciará la segunda parte del proyecto, en la cual se les tapará el ojo pineal. La última semana se realizarán los análisis estadísticos pertinentes.

Los experimentos con animales se realizarán después de obtener la aprobación del Comité de Ética de Experimentación Animal (CEEA).

Todas las fases del trabajo serán bajo la tutela del profesor Dr. Mourad Akaarir El ghourri.

Tareas	Semana											
	15-sep	22-sep	29-sep	06-oct	13-oct	20-oct	27-oct	03-nov	10-nov	17-nov	24-nov	
Montaje de jaulas, cámaras de infrarrojos y conexiones												
Introducir los lagartos en las jaulas												
Con los ojos destapados												
Ciclo luz-oscuridad (L-O)												
Ciclo luz continua (LC)												
Ciclo luz-oscuridad (L-O)												
Ciclo oscuridad continua (OC)												
Ciclo luz-oscuridad (L-O)												
Con los ojos tapados												
Ciclo luz-oscuridad (L-O)												
Ciclo luz continua (LC)												
Ciclo luz-oscuridad (L-O)												
Ciclo oscuridad continua (OC)												
Ciclo luz-oscuridad (L-O)												
Análisis de datos												

PRESUPUESTO

El presupuesto del proyecto alcanza un total de 420,49 €. Es importante destacar que únicamente será necesario comprar las cámaras de infrarrojos y la resina Duralay, ya que tanto los individuos como el resto de material ya está presente en el laboratorio.

Concepto	Cantidad	Valor unitario (€)	Valor Total (€)
<i>Gallotia galloti</i>	20	0*	0*
Jaula con infrarrojos	20	0*	0*
Micro cámara Unotec Full HD	20	19,99	399,8
Alimento para reptiles	200-500 g	0*	0*
Equipo transmisor (Digidata)	1	0*	0*
Resina Duralay	59 mililitros	20,69	20,69
Ordenador	1	0*	0*
			420,49

*Coste cero debido a que ya se tiene en el laboratorio.

RESULTADOS ESPERADOS

En cuanto a los resultados, en la primera parte del proyecto se espera que el hecho de modificar el ciclo vigilia-sueño de los lacértidos provoque una desincronización del sistema circadiano endógeno. Ésto se podría observar con cambios comportamentales como las horas en las cuales se encuentran dormidos, o si se ve modificado el horario de alimentarse. Las cámaras con visión infrarroja nos permitirán saber si el animal cuando no se mueve está con los ojos abiertos o no, de forma que certificaremos si está dormido o reposando. El movimiento, registrado por los sensores infrarrojos, también será primordial para comprobar hasta qué punto se produce el desfase del sistema circadiano.

En la segunda parte del proyecto, en la cual se les cubrirá el órgano pineal, esperamos que se produzca un desfase del sistema circadiano endógeno mayor al anterior. Al ser un órgano fotorreceptor, se espera que los cambios de luz-oscuridad sean más difíciles de interpretar por los lacértidos, por tanto, los cambios comportamentales se agravarán en relación a la primera fase.

Y en el caso de que no se produzca esta desincronización tan pronunciada, podemos considerar que hay otra u otras vías que sincronizan el ritmo actividad-inactividad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akaârir, M. (2007). *Signos Electrofisiológicos de los estados de reposo, sueño y vigilia. Estudio comparativo entre mamíferos y reptiles*. Tesis Doctoral, Universitat de les Illes Balears.
2. Aschoff, J. (1964). Survival value of diurnal rhythms. In *Symposia of the Zoological Society of London* (Vol. 13, pp. 79-89).
3. Aza, M. G. (2015). La cronobiología, la alimentación y la salud. *Mediterráneo económico*, (27), 101-122.
4. Borbély, A. A. (1982). A two process model of sleep regulation. *Human neurobiology*, 1: 195-204.
5. Borbély, A. A. (1982). Sleep regulation: circadian rhythm and homeostasis. In *Sleep* (pp. 83-103). Springer Berlin Heidelberg.
6. Cannon, & Walter, B. [1928]. Organization for Physiological Homeostasis. *Physiological Reviews*, 9: 399-443.
7. Cardinali, D. P., & Scacchi, P. (2009). Ritmos Biológicos en Neuroendocrinología. *Revista SAEGRE*, 16(3), 5-25.
8. De Andrés, I. T., Garzón, M., & Reinoso-Suárez, F. (2011). Functional anatomy of non-REM sleep. *Frontiers in neurology*, 2, 70.
9. DeCoursey, P. J., Krulas, J. R., Mele, G., & Holley, D. C. (1997). Circadian performance of suprachiasmatic nuclei (SCN)-lesioned antelope ground squirrels in a desert enclosure. *Physiology & Behavior*, 62(5), 1099-1108.
10. Eakin, R. M., & Westfall, J. A. (1960). Further observations on the fine structure of the parietal eye of lizards. *The Journal of Cell Biology*, 8(2), 483-499.
11. Emerson, K. J., Bradshaw, W. E., & Holzapfel, C. M. (2008). Concordance of the circadian clock with the environment is necessary to maximize fitness in natural populations. *Evolution*, 62(4), 979-983.
12. Golombek, D. (2002). La máquina del tiempo. *Golombek D, compilador. Cronobiología humana ritmos y relojes biológicos en la salud y en la enfermedad*. (1ª Ed). Bs As (Argentina): Universidad Nacional de Quilmes, 31.
13. Gruart, A., Delgado, M. J., Escobar, C., & Aguilar Robledo, R. (2002). Los relojes que gobiernan la vida. Ed. *La ciencia/188 para todos*. México, 197.

14. Hernández, J. (1992). *Fisiología humana*. McGraw-Hill Interamericana de España.
15. Kardong, K. V. (1998). *Vertebrados: anatomía comparada, función, evolución* (No. 596 KAR).
16. Marin-Padilla, M. (1978). Dual origin of the mammalian neocortex and evolution of the cortical plate. *Anatomy and embryology*, 152(2), 109-126.
17. Nomura, T., Kawaguchi, M., Ono, K., & Murakami, Y. (2013). Reptiles: A New Model for Brain Evo-Devo Research. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 320(2), 57-73.
18. Prigogine I, Nicolis G. (1997). Self-Organization in Non-Equilibrium Systems: From dissipative structures to order through fluctuations. *New York: J. Wiley & Sons*.
19. Rechtschaffen, A., & Kales, A. (1968). A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects.
20. Rial, R. V., Akaârir, M., Gamundí, A., Nicolau, C., Garau, C., Aparicio, S., ... & Coenen, A. M. (2010). Evolution of wakefulness, sleep and hibernation: from reptiles to mammals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(8), 1144-1160.
21. Rol, M. A., & Madrid, J. A. (2006). Cronobiología básica y clínica. *Edittec@ Rec*.
22. Solessio, E., & Engbretson, G. A. (1993). Antagonistic chromatic mechanisms in photoreceptors of the parietal eye of lizards.
23. Tobler, I. [2000]. *Phylogeny of sleep regulation*. In Kryger, M.H., Roth, T. and Dement W.C. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
24. Underwood, H. (1981). Circadian organization in the lizard *Sceloporus occidentalis*: the effects of pinealectomy, blinding, and melatonin. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 141(4), 537-547.
25. Underwood, H. (1989). The pineal and melatonin: regulators of circadian function in lower vertebrates. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 45(10), 914-922.