



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

Efectos de la ingesta de alcohol en el ciclo sueño-vigilia en un modelo de ansiedad

Tesis para obtener el grado de
Maestría en Ciencias Fisiológicas

Presenta

Pisc. Adriela Fierro Rojas

Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor

Directores de Tesis

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

Directores de Tesis

Dr. Rubén Vázquez Roque

Dr. Alejandro Moyaho Martínez

Noviembre, 2020.

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para mis estudios de maestría en Ciencias Fisiológicas con número 926368.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado VIEP-BUAP 2020 y al proyecto del Cuerpo Académico en Neuroendocrinología BUAP-CA-288.

Agradecimientos

Al Dr. José Ramón Eguibar Cuenca y a la Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez por la dirección de este proyecto de maestría, por su asesoría, atención y dedicación para el desarrollo de este proyecto y para mi formación profesional.

Al Dr. Alejandro Moyaho Martínez y al Dr. Rubén Vázquez Roque por su asesoría, comentarios y observaciones.

A los miembros del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor, por su amistad y compañerismo.

A mis familiares y amigos, por su apoyo y cariño.

Resumen

La ansiedad es un estado emocional presente en los seres humanos y en algunas especies animales. La ansiedad tiene como función la adaptación y supervivencia del sujeto al estar involucrada con la respuesta fisiológica ante estímulos amenazantes. Sin embargo, cuando existe un estado de ansiedad sostenida, incluso ante situaciones en donde no hay un estímulo estresor específico, la ansiedad se convierte en patológica y puede ser un factor predisponente para el desarrollo de otro tipo de trastornos físicos y psiquiátricos, como los trastornos del sueño y la dependencia al alcohol, los cuales son de especial interés para este estudio. Al mismo tiempo, la presencia de las alteraciones del sueño y el consumo de alcohol influyen de manera directa sobre la ansiedad, formando una triada patológica.

En sujetos con ansiedad, se han reportado alteraciones en el sueño, las cuales consisten en una dificultad para mantener y conciliar el sueño, disminución del sueño profundo y una desincronización del ritmo circadiano de sueño. Adicionalmente, los sujetos con ansiedad son más propensos a desarrollar la dependencia al consumo de alcohol, debido a que el alcohol al ser un depresor del sistema nervioso central aminora los síntomas de la ansiedad y facilita el sueño, resultado paliativo para el insomnio.

En el laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología se cuenta con dos sublíneas de ratas de la cepa Sprague-Dawley que se diferencian por su frecuencia de bostezo espontáneo. Las ratas de alto bostezo (HY, de sus siglas en inglés) tienen una media de 20 bostezos por hora, mientras que las ratas de bajo bostezo (LY, de sus siglas en inglés) tienen solo 2 bostezos por hora. Además, las ratas LY presentan mayores conductas relacionadas a la ansiedad cuando son evaluadas en pruebas conductuales psicofisiológicas con respecto de las ratas HY.

El objetivo de este estudio fue analizar las alteraciones en el ciclo sueño-vigilia en las ratas HY y LY después de la ingesta de alcohol, mediante un protocolo de administración voluntaria de alcohol utilizando un paradigma de libre elección. Adicionalmente, de analizar los efectos de la ingesta de alcohol en la conducta relacionada a la ansiedad en la prueba de laberinto en cruz elevado, y por último, determinar la preferencia por el consumo de alcohol en ambas sublíneas.

Nuestros resultados muestran que las ratas LY, las cuales son un modelo de ansiedad, presentaron una preferencia significativa al consumo de alcohol. Al ser evaluadas en el laberinto en cruz elevado, las ratas LY mostraron un aumento en el número de entradas a los brazos abiertos del laberinto y el

número de conductas exploratorias, lo que soporta un efecto ansiolítico del alcohol. La ingesta de alcohol produjo un aumento de la duración total del sueño de ondas lentas, además de un cambio en la distribución circadiana del ciclo sueño-vigilia. En las ratas HY, no se obtuvo una preferencia por el consumo de alcohol, ni cambios en la conducta relacionada a la ansiedad evaluada en el laberinto en cruz elevado, ni alteraciones significativas en su ciclo sueño-vigilia.

Por lo tanto, concluimos que las ratas LY, al tener un fenotipo ansioso, tuvieron una preferencia al consumo de alcohol y mayores alteraciones en su ciclo sueño-vigilia con respecto de las ratas HY, las cuales son resilientes.

Abstract

Anxiety is an emotional state present in human beings and in some animal species. Anxiety has an adaptative function for the individual survival by being involved on the physiological response to stress and threats. When there is a sustained state of anxiety even in situation where no real threat is present, anxiety might turn into a pathological state and an important factor for the development of another physical and psychiatric disease such as sleep alterations and alcohol dependence. In this regard, the presence of sleep alterations and alcohol consumption affects directly on to anxiety, forming a pathological triad.

It has been reported that subjects with anxiety develop sleep alterations that include difficulties to initiate and maintain sleep, a decrease of deep sleep and a circadian sleep rhythm desynchronization. Additionally, subjects with higher anxiety levels are more susceptible to develop alcohol dependence or and alcohol use disorder, due to reducing anxiety and facilitating sleep, and being used to treat insomnia.

At the Laboratory of Behavioral Neurophysiology and Motor Control of the Institute of Physiology we have inbred two sublines of Sprague-Dawley rats that differ in their spontaneous yawning frequency. High-yawning rats (HY) have a mean of 20 yawns per hour whereas the low-yawning rats (LY) have less than 2 yawns per hour. Also, LY rats present higher anxious behavior when evaluated on psychophysiological tests with respect to HY rats.

The aim of this study was to assess sleep-wake alterations on HY and LY rats after chronic alcohol intake, using a voluntary alcohol intake by a two-bottle choice protocol. Additionally, we analyzed the effects of alcohol intake on anxiety behavior evaluated on the elevated plus maze and determined the alcohol preference between sublines.

Our results showed that LY rats have a significant alcohol preference with respect to HY rats. LY rats also showed an increase of the number of entries to the open arms of the elevated plus maze, and an increase of exploratory behaviors, which support the presence of an anxiolytic effect of alcohol. Alcohol intake produced an increase of total duration of slow-wave sleep and a change in sleep-wake circadian distribution. HY rats did not showed an alcohol preference, nor changes in anxiety related behavior when evaluated on the elevated plus maze and sleep-wake alterations.

Hence, we concluded that Ly rats are an anxious phenotype and presented a significant preference for alcohol consumption and had more sleep alterations with respect to the HY rats, which are resilient.

Índice

1. Introducción	12
1.1 Ansiedad	13
1.1.1 Fisiología de la ansiedad y del estrés	16
1.1.1.1 Eje hipotálamo-pituitario-adrenal.....	17
1.1.1.2 Sistema simpático adrenomedular.....	19
1.1.1.3 Sistema noradrenérgico.....	19
1.1.1.4 Sistema dopaminérgico.....	20
1.1.1.5 Sistema serotoninérgico	21
1.1.1.6 Neuropeptidos	22
1.1.1.7 Otros neurotransmisores	22
1.1.2 Trastornos de ansiedad	22
1.1.2.1 Trastorno de ansiedad generalizada.....	23
1.1.3 Comorbilidad y patología dual.....	24
1.2 Sueño	24
1.2.1 Fisiología del sueño.....	28
1.2.1.1 Sistemas promotores y de mantenimiento de la vigilia	29
1.2.1.2 Sistemas promotores y de mantenimiento del sueño de ondas lentas	32
1.2.1.3 Sistemas promotores y de mantenimiento del sueño con movimientos oculares rápidos	34
1.3 Consumo de alcohol	39
1.3.1 Efectos de la ingesta de alcohol en la ansiedad	40
1.3.2 Efectos de la ingesta de alcohol en el sueño	40
1.3.3 Neurobiología del alcohol	42
1.3.3.1 Sistema GABAérgico.....	42
1.3.3.2 Sistema glutamatérgico.....	44
1.3.3.3 Sistema dopaminérgico.....	44
1.3.3.4 Sistema de opioides endógenos	44
1.3.3.5 Sistema serotoninérgico.....	45
1.3.3.6 Sistema noradrenérgico	46
1.3.3.7 Otros sistemas	46

1.4 Modelos animales	46
1.5 Relación entre la ansiedad y las alteraciones del sueño y el consumo de alcohol	48
2. Antecedentes	50
2.1 Ratas de alto y bajo bostezo.....	50
2.1.1 Ciclo sueño-vigilia en las ratas HY y LY	51
2.1.2 Ciclo sueño-vigilia después de la inducción de estrés agudo en las ratas HY y LY.....	51
3. Planteamiento del Problema	52
4. Justificación	53
5. Pregunta de investigación	54
6. Objetivos	54
6.1 Objetivo general	54
6.2 Objetivos particulares.....	54
7. Hipótesis	55
8. Metodología	55
8.1 Sujetos experimentales.....	55
8.2 Implante de electrodos.....	55
8.3 Registro de sueño.....	56
8.4 Administración de alcohol	57
8.5 Prueba conductual	57
8.6 Diagrama de experimentos.....	59
8.7 Evaluación de los registros de sueño.....	59
8.8 Análisis estadísticos.....	60
9. Resultados	61
9.1 Ingesta de alcohol	61
9.1.1 Consumo total de alcohol	61
9.1.2 Preferencia de consumo de agua y alcohol	63
9.1.3 Peso corporal	63
9.1.4 Ingesta de alimento	63
9.1.5 Ingesta total de calorías	67
9.1.6 Calorías derivadas de la ingesta de alcohol	68
9.2 Laberinto en cruz elevado	69

9.2.1	Tiempo de permanencia en los brazos y en el centro del laberinto en cruz elevado	.70
9.2.2	Número de entradas a los brazos y al centro del laberinto70
9.2.3	Conductas exploratorias71
9.3	Ciclo sueño-vigilia73
9.3.1	Latencia a sueño de ondas lentas y a sueño con movimientos oculares rápidos73
9.3.2	Duración total de la vigilia, sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol74
9.3.3	Distribución temporal de la duración del sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol75
9.3.4	Número de episodios y su duración promedio del sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol83
9.3.5	Distribución temporal del número de episodios de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol86
9.3.5.1	Distribución temporal del número de episodios de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol en ratas de alto bostezo86
9.3.5.2	Distribución temporal del número de episodios de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol en ratas de bajo bostezo88
9.3.5.3	Distribución temporal del número de episodios de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto y bajo bostezo90
9.3.6	Análisis COSINOR para la distribución temporal del ciclo sueño-vigilia en las ratas HY y LY en condiciones control, AL1 y AL291
9.3.6.3	Duración de la vigilia, sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en condiciones control en ratas de alto y bajo bostezo92
9.3.6.3	Duración de la vigilia, sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol en ratas de alto bostezo95
9.3.6.3	Duración de la vigilia, sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol en ratas de alto bajo bostezo	..98
10.	Discusión101
9.3	Ingesta de alcohol101
9.3	Laberinto en cruz elevado104
9.3	Sueño106

11. Conclusiones	115
12. Referencias	116

1. Introducción

La ansiedad es un estado emocional presente en los seres humanos y en algunas especies animales, el cual tiene componentes afectivos, cognitivos y perceptuales (Wiedmann, 2015). La ansiedad supone una activación del sistema nervioso central en respuesta ante un estímulo aversivo real o potencial, y permite una adaptación del individuo a las nuevas demandas ambientales (Chorpita & Barlow, 1998). Sin embargo, la ansiedad llega a ser patológica cuando se mantiene como un estado constante de preocupación por una amenaza no real (Dias *et al.*, 2013). También se ha reportado que algunos sujetos son más susceptibles a la ansiedad, por lo que tienen un mayor riesgo de desarrollar dependencia a las drogas como el alcohol, para aminorar los síntomas de la ansiedad (Kushner *et al.*, 2000). También los sujetos que tienen mayor ansiedad son más propensos a tener varias patologías como el síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares, otros trastornos psiquiátricos como la depresión, y alteraciones en el sueño (Sarason & Sarason, 2006).

El sueño es un proceso fisiológico vital para todos los organismos. Una mala calidad del sueño o una supresión de este puede tener consecuencias catastróficas para el organismo, que pueden contribuir al desarrollo de enfermedades e incluso puede llevar a la muerte (Ferrara & De Gennaro 2001). El sueño puede ser influenciado y afectado por una gran variedad de factores fisiológicos y ambientales, siendo dos de los principales los trastornos afectivos como la ansiedad y el consumo de drogas como el alcohol (Kaneita *et al.* 2009).

El alcohol es una de las drogas más utilizadas para inducir el sueño ante la presencia de un trastorno del sueño como lo es el insomnio (Brower *et al.*, 2001) o un trastorno de ansiedad, en la cual incluye también en su sintomatología al insomnio (Conroy & Arnedt, 2014; Roehrs & Roth, 2018). El alcohol, al ser un depresor del sistema nervioso central, comparte los efectos somníferos con otras sustancias como los barbitúricos o las benzodiazepinas (Abrahao *et al.* 2017). Sin embargo, el sueño inducido por el alcohol es de mala calidad, ya que se produce un incremento del sueño ligero y una reducción del sueño profundo, así como el aumento de la frecuencia de despertares nocturnos (Chan *et al.* 2015). Del mismo modo, la ansiedad también produce una reducción del sueño profundo y produce un aumento de los despertares nocturnos (Alvaro *et al.*, 2013).

Por lo tanto, existe una estrecha relación entre los trastornos del sueño, la ansiedad y el consumo de alcohol, el cual se da de manera recíproca y compleja, ya que la presencia de un solo trastorno es un factor determinante para la aparición de los otros dos, de manera que también un trastorno exagera a los otros (Chueh *et al.*, 2019). Por ejemplo, la presencia de un trastorno de ansiedad

produce alteraciones en el sueño, que a su vez puede propiciar el consumo de alcohol para disminuir los síntomas de la ansiedad e inducir el sueño (Kushner *et al.*, 2000). El alcohol resulta efectivo como inductor del sueño durante las primeras etapas del consumo (Colrain *et al.*, 2014), sin embargo, su uso continuo puede contribuir al desarrollo de la tolerancia, la cual consiste en el aumento progresivo del consumo de alcohol para experimentar los efectos producidos durante las primeras etapas del consumo y desarrollar dependencia (Connor *et al.*, 2015). Con la suspensión del consumo de alcohol se produce el síndrome de abstinencia, durante el cual se experimenta una serie de síntomas aversivos como la ansiedad y se considera como un factor importante para la recaída en su consumo (Smith & Randall, 2012; Brower *et al.*, 2001).



Figura 1. Triada patológica. La triada conformada por la ansiedad, las alteraciones en el sueño y el consumo de alcohol genera un problema de salud pública. Cualquiera de las tres condiciones constituye un factor importante para la aparición y exacerbación de las otras dos, dificultando su tratamiento.

Por lo tanto, existe una triada patológica formada por la ansiedad, que puede producir alteraciones en el sueño, y al mismo tiempo puede desencadenar una dependencia al consumo de alcohol. Esta triada ayudaría a explicar la etiología de la dependencia al consumo de alcohol en sujetos con ansiedad y cómo se ve afectado el tratamiento cuando está presente una alteración en el sueño.

1.1 Ansiedad

La ansiedad es un estado emocional inherente a los humanos, el cual se define por componentes afectivos, perceptuales, cognitivos, conductuales y fisiológicos (Wiedmann, 2015). Las

manifestaciones de la ansiedad pueden ser objetivas, comprendiendo síntomas fisiológicos como la aceleración de la frecuencia cardiaca y respiratoria, temblor, sudoración, aumento de la presión arterial y sequedad en la boca, además de síntomas psicológicos como la evitación, inquietud, exageración de las respuestas conductuales, y deseo de escapar, como sucede en la agorafobia; y manifestaciones subjetivas que comprenden un alto grado de alerta, miedo intenso y la expectativa de desastres o peligros inminentes (Kandel *et al.*, 2001). Spielberger y colaboradores (1984) definen a la ansiedad como una reacción emocional que consiste en sentimientos de tensión, aprensión, nerviosismo y preocupación, así como una activación o descarga del sistema nervioso autónomo.

A diferencia del miedo, el cual se asocia a un estímulo externo amenazante e identificable, la ansiedad se trata de un estado emocional difuso y sin una fuente de amenaza reconocible. Epstein (1972) estableció que la diferencia entre ambos términos está en que el miedo sería un factor que motiva la conducta de evitación ante la percepción de una amenaza, mientras que la ansiedad sería un estado emocional de miedo no resuelto o un estado de activación que no posee una dirección específica tras la percepción de una amenaza (Sandín & Chorot, 2008).

En un sujeto sano, la ansiedad incluye un sistema de alerta que consiste en una activación del sistema nervioso central simpático y del eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) para responder a un estímulo que pueda resultar amenazante, lo cual consiste en el componente perceptual de la ansiedad. Seguido de esto, ocurre un procesamiento cognitivo que involucra al sistema límbico y a la corteza cerebral, los cuales constituyen a los componentes cognitivo y afectivo de la ansiedad, de manera que el sujeto evalúa los riesgos y compara la situación actual con su experiencia para luego prepararse para la acción. Por último, el individuo desarrollará una estrategia de adaptación ante futuros eventos o estímulos estresores, lo cual involucra al componente conductual de la ansiedad (Bystritsky *et al.*, 2013).

La ansiedad se convierte en patológica cuando hay una alteración en este proceso de reconocimiento, evaluación y adaptación a la situación o estímulo aversivo, cuando hay una respuesta exacerbada y mantenida a un estímulo ambiguo que pueda ser percibido como amenazante, además de una inhabilidad para desarrollar estrategias adaptativas adecuadas (Bystritsky *et al.*, 2013).

El estrés es otro factor importante en el desarrollo de una ansiedad patológica, ya que una exposición prolongada a un estresor también puede alterar la respuesta del sistema nervioso

simpático y del eje HPA (Weger & Sandi, 2018) y afecta la adaptación del organismo a nuevos estresores (Grissom & Bhatnagar, 2009).

El estrés se define como la respuesta ante estímulos o situaciones en los que están ausentes el control y la predicción, es decir cuando una demanda ambiental excede la capacidad regulatoria natural de un organismo (Koolhaas *et al.*, 2011). Selye (1950) definió el concepto de estrés como como la respuesta no específica del organismo a un estímulo que supone una amenaza para la homeostasis, el equilibrio interno del organismo (Koolhaas *et al.*, 2011). Al igual que la ansiedad, el estrés debe considerarse como un proceso que incluye el estímulo, el procesamiento perceptual de dicho estímulo y las respuestas fisiológicas y conductuales del sujeto (Godoy *et al.*, 2018).

Al igual que en la ansiedad, el estrés produce una activación en el sistema nervioso simpático adrenomedular (SAM) y del eje HPA, los cuales son los principales sistemas encargados de la disposición y movilización de energía y nutrientes a diversos órganos y tejidos para preparar una respuesta conductual apropiada de pelea o huida (Herman & Cullinan, 1997). La magnitud de la respuesta de estos sistemas depende de la intensidad o tiempo de exposición al estresor (Grissom & Bhatnagar, 2008). Sin embargo, no todos los estímulos estresores son aversivos, se ha reportado que situaciones que son satisfactorias como la cópula son altamente estresantes, pero la recuperación de la respuesta a este tipo de estrés es más rápida (Koolhaas *et al.*, 2011). Por otra parte, los términos que definen al estrés es la controlabilidad y predictibilidad, de manera que la naturaleza del estímulo no lo hace aversivo, sino que es el grado en que este estresor es controlado y previsto (Koolhaas *et al.*, 2011); además de la capacidad del organismo para efectuar una respuesta anticipatoria (Koolhaas *et al.*, 1999). Otro factor importante en la respuesta al estrés, y la categorización de un estímulo como aversivo, es la velocidad de recuperación de la activación del eje HPA a sus niveles basales y no así la magnitud de la respuesta (Dallman, 2007).

El estrés se vuelve patológico cuando las respuestas fisiológicas, como la activación del sistema SAM y el eje HPA, tienen tanto una respuesta exacerbada y una velocidad lenta de recuperación a los niveles basales (Herman & Cullinan, 1997). Además, en estas condiciones, se da una inhabilidad para adaptarse de manera apropiada a las demandas ambientales, es decir, exposición a otros estímulos estresores (García *et al.*, 2000). Ante una situación en la cual está disminuida la capacidad de control y predictibilidad, además de una carga alostérica, el estrés puede contribuir a la generación de psicopatologías como la ansiedad y la depresión (Radley *et al.*, 2011).

Por otro lado, los individuos que tienen un rasgo de ansiedad o una mayor susceptibilidad a la ansiedad presentan una alteración en la respuesta del eje HPA y del sistema nervioso simpático ante un estímulo estresor, además de una lenta recuperación a los niveles basales (Weger & Sandi, 2018)

1.1.1 Fisiología de la ansiedad y del estrés

Como ya se ha mencionado anteriormente, en la ansiedad y en el estrés están involucradas ciertas áreas del cerebro, glándulas y órganos de todo el cuerpo, así como varios neuromoduladores y hormonas que permiten al organismo desplegar la respuesta conductual adecuada para hacer frente a la amenaza y al mismo tiempo mantener el equilibrio interno (Millan, 2003). Los principales sistemas de respuesta al estrés y a la ansiedad son el sistema simpático adrenomedular (SAM) y el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA), los cuales secretan noradrenalina y glucocorticoides respectivamente para generar una respuesta coordinada inmediata que puede durar por algunos minutos o hasta días en los que está presente el estímulo estresor, con el fin de preservar el equilibrio interno del organismo (Godoy *et al.*, 2018).

El primer paso para la respuesta de estos dos sistemas es la percepción del estímulo como un estresor, es decir, como un factor que supone una amenaza para el organismo. Posterior a esto, el sistema SAM y el eje HPA responderán dependiendo del tipo de estresor, de los cuales, se distinguen los estresores físicos y los psicológicos (Godoy *et al.*, 2018). Los estresores físicos consisten en amenazas directas al funcionamiento orgánico como lo es una disminución de la oxigenación, una hemorragia o un proceso infeccioso, los cuales son procesados principalmente por el tallo cerebral, regiones hipotalámicas, el sistema nervioso autónomo y por el sistema SAM, efectuando una respuesta rápida y de corta duración, en la cual incluye un estado de alerta y vigilancia (Godoy *et al.*, 2018); además de una respuesta de larga duración del eje HPA en la que se incluye la secreción de hormonas que facilitan la respuesta de pelea-huida (Herman & Cullinan, 1997). Por otra parte, los estresores psicológicos tienen un componente conductual, en el que se pierden las capacidades de predictibilidad, control y de anticipación, generando así una respuesta tanto física como cognitiva, en la cual se involucra el sistema límbico, el sistema SAM y el eje HPA (Godoy *et al.*, 2018; Vermetten & Bremner, 2002).

Otros sistemas involucrados en la respuesta al estrés y la ansiedad son el sistema noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico, además de varios neuropéptidos (Wiedmann, 2015; Millan, 2003; (Vermetten & Bremner, 2002).

1.1.1.1 Eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA)

Este eje está directamente involucrado con la respuesta al estrés y en la ansiedad; siendo el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) donde se encuentran neuronas que contienen el factor liberador de corticotropina (CRF, de sus siglas en inglés), que tiene aferencias de los sistemas cardiovascular y neuroendocrino (Herman & Cullinan 1997). En condiciones de estrés físico o psicológico se segrega CRF desde el NPV hacia la glándula pituitaria, en donde a su vez se desencadena la secreción de hormona adrenocorticotropa (ACTH, de sus siglas en inglés) hacia el flujo sanguíneo. La ACTH es un péptido que actúa en la corteza suprarrenal para liberar glucocorticoides, cortisol en humanos o corticosterona en ratas, las cuales son las principales hormonas de estrés periféricas (Vermetten & Bremner, 2002).

El eje HPA es regulado por retroalimentación negativa, donde el cortisol es captado por los receptores para glucocorticoides (GRs, de sus siglas en inglés) ubicados en el hipocampo, la amígdala, hipotálamo y en la glándula pituitaria (véase Figura 2). En condiciones de estrés crónico se produce una desregulación de este sistema de retroalimentación, y por lo tanto hay un excedente de cortisol en la sangre (Duva *et al.*, 2010), por lo que disminuye la cantidad de GRs en todo el eje y permite que se siga produciendo más CRF y ACTH, que a su vez estimulan la generación de más cortisol, produciendo hipercortisolemia por un asa de retroalimentación positiva (McEwen, 1993). El excedente de cortisol puede ser neurotóxico para partes vulnerables del cerebro, como lo es el hipocampo y la amígdala (Duval *et al.*, 2010), y por eso es frecuente que en el estrés crónico se desarrolle depresión, trastornos de ansiedad y déficits en la memoria por daño en el hipocampo (Wolf *et al.*, 2015).

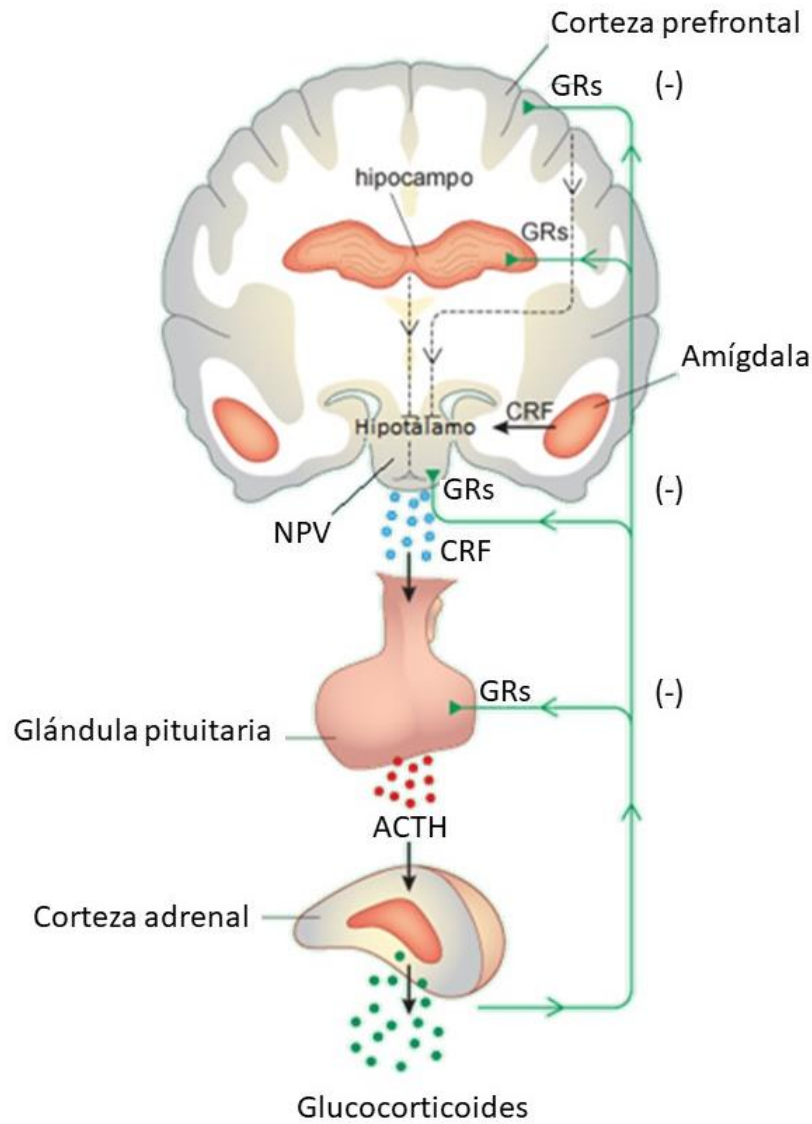


Figura 2. Esquema del eje hipotálamo-pituitario-adrenal ante la exposición al estrés en humanos. Desde el núcleo paraventricular del hipotálamo (PV) se libera CRF, que a su vez produce la liberación de ACTH desde la glándula pituitaria, la cual promueve la liberación de glucocorticoides desde la corteza suprarrenal. El sistema se regula negativamente a través de los receptores de glucocorticoides (GRs) localizados en todo el eje. CRF=factor liberador de corticotropina, ACTH=hormona adrenocorticotrófica. Modificado de Datta y Rostron (2015).

Se ha reportado que la secreción de glucocorticoides tiene un ritmo circadiano, con un pico de secreción en la mañana en los seres humanos, y en la tarde en los roedores (Herman & Cullinan, 1997). Los glucocorticoides pueden traspasar fácilmente la membrana celular, y al ser liberados por el torrente sanguíneo, estos pueden llegar a prácticamente cualquier parte del organismo al unirse

a receptores GRs o a receptores a mineralocorticoides (MRs) (Herman & Cullinan, 1997). Los MRs tienen una mayor afinidad a los corticosteroides con respecto a los GRs, y en condiciones basales tienen una mayor ocupación mientras que los GRs tienen una mínima ocupación. Sin embargo, los GRs se encuentran dispersos en la mayoría de las áreas cerebrales, mientras que los MRs sólo están expresados en el NPV, en el hipocampo, en la amígdala, en el septum lateral, *locus coeruleus* (LC) y en el núcleo del tracto solitario (Godoy *et al.*, 2018). El CRF tiene efectos directos sobre la conducta al promover la activación del organismo mediante neurotransmisores específicos que activan la corteza cerebral, el sistema SAM, y el sistema límbico, especialmente en la expresión del miedo y para el mantenimiento de un estado de alerta, preparación y de atención selectiva, los cuales están presentes en un estado de ansiedad (Chrousos, 2009).

1.1.1.2 Sistema simpático adrenomedular

Este sistema está encargado de ejecutar una respuesta rápida y corta, mediada principalmente por las catecolaminas adrenalina y noradrenalina (Duval *et al.*, 2010). Este sistema tiene sus proyecciones desde el NPV y el LC hacia neuronas preganglionares simpáticas en la columna celular dorsal intermediolateral de la médula espinal, hacia el núcleo simpático paravertebral y finalmente a la médula adrenal (Godoy *et al.*, 2018). La adrenalina y noradrenalina son secretadas por la médula de las glándulas suprarrenales, y la noradrenalina además por las terminaciones simpáticas hacia el torrente sanguíneo, y en condiciones de estrés promueven cambios en el flujo sanguíneo, la secreción de glándulas exocrinas y la actividad de los órganos viscerales y del músculo liso para preparar al organismo para la respuesta de pelea-huida, la cual incluye el mantenimiento de un estado de altera, incremento del oxígeno y la glucosa y otros recursos orgánicos para mantener esta respuesta (Koolhaas *et al.*, 2011). La adrenalina y noradrenalina actúan en el organismo a través de receptores presentes en las membranas celulares de diversos órganos y múltiples neuronas del sistema nervioso central (Chrousos, 2009). Además, el sistema SAM modula la actividad del eje HPA y actúa de manera simultánea con éste para establecer sinergia (Godoy *et al.*, 2018).

1.1.1.3 Sistema noradrenérgico

El *locus coeruleus* (LC) está localizado en el tallo cerebral y sintetiza noradrenalina como su principal neurotransmisor (Vermetten & Bremner, 2002). El LC tiene un rol central en la regulación de procesos conductuales, como la atención selectiva, el procesamiento de información sensorial y la toma de decisiones (Winklewski *et al.*, 2017). Además, el LC funciona como un sistema de alerta general y determina, bajo situaciones de amenaza, si el organismo presta atención hacia el estímulo externo o hacia estados internos vegetativos (Vermetten & Bremner, 2002).

El LC tiene proyecciones hacia la corteza cerebral, el hipotálamo, el tálamo, el hipocampo y a la amígdala, así como a otras regiones en el tallo cerebral (Winklewski *et al.*, 2017). De esta manera, el LC tiene aferencias hacia el sistema límbico, que a su vez proyectan hacia el núcleo paraventricular del hipotálamo e inducen la activación del eje HPA y el sistema SAM (Godoy *et al.*, 2018).

Las células que reciben aferencias del LC tienen receptores adrenérgicos clasificados como α_1 , α_2 y β . La activación de los receptores α_1 y β generan la excitación de la célula, mientras que la activación de los receptores α_2 producen la inhibición de la célula (Winklewski *et al.*, 2017).

Este sistema noradrenérgico modula las funciones cerebrales de manera rápida y global en respuesta ante los cambios en el ambiente (Vermetten & Bremner, 2002), lo cual es fundamental para la adaptación al entorno cambiante. En condiciones basales, la corteza prefrontal ejerce un control inhibitorio de la amígdala, el eje HPA y al LC, pero ante la exposición a un estresor, la amígdala inhibe la actividad de la corteza prefrontal y aumenta la actividad del eje HPA y del LC (Radley *et al.*, 2008). A su vez, el eje HPA y el LC activan a la amígdala para continuar disminuyendo la inhibición producida por la corteza prefrontal (Bremner *et al.*, 1996).

1.1.1.4 Sistema dopaminérgico

La dopamina es un neurotransmisor importante en varias vías del sistema nervioso central, en el que participa en el control de varias funciones como la locomoción, la cognición, la emoción, la motivación y la secreción neuroendocrina (Duval *et al.* 2010). La dopamina también está relacionada con la capacidad de procesamiento de información (Vermetten & Bremner, 2002).

La dopamina se libera principalmente del área ventral tegmental (AVT), en cual tiene proyecciones hacia tres vías: la primera es la nigroestriatal, la cual cuenta con proyecciones desde la sustancia nigra pars compacta al estriado, y está encargada de la planificación de los movimientos; la segunda vía es la mesolímbica, que tiene proyecciones desde el mesencéfalo hacia el núcleo accumbens, que está encargado de las funciones de placer y recompensa; y la tercera vía es la mesocortical, con proyecciones desde el mesencéfalo a la corteza prefrontal, cuyas neuronas se activan ante cambios de las condiciones ambientales (Vermetten & Bremner, 2002; Duval *et al.*, 2010).

La dopamina actúa en diferentes partes del cerebro a través de receptores metabotrópicos clasificados como D1 a D5, que basados en su unión con proteínas G que estimulan o inhiben la producción del segundo mensajero AMP cíclico, se conforman en dos familias: la familia D1 que incluye a los receptores D1 y D5; y la familia D2, que incluye a los receptores D2, D3 y D4 (Nieoullon

& Coquerel, 2003). Los receptores de la familia D1 se encuentran distribuidos mayoritariamente en el núcleo accumbens, la amígdala, el putamen-caudado, el hipocampo y en la corteza prefrontal; mientras que los receptores de la familia D2 se distribuyen mayoritariamente en el núcleo accumbens y en el tubérculo olfatorio (Arnaiz & Antonelli, 2016).

La exposición al estrés, tanto físico como psicológico, producen un incremento en la síntesis y en la transmisión de la dopamina, lo cual puede inducir cambios adaptativos en el cerebro (Pani *et al.*, 2000), principalmente, las vías dopaminérgicas mesolímbicas y mesocortical están involucradas en la regulación de la secreción de glucocorticoides por el eje HPA y de catecolaminas por la activación del sistema SAM (Rasheed & Alghasham, 2012).

Además, la exposición al estrés afecta a la memoria de trabajo y produce anhedonia, es decir, el sujeto suprime las conductas que le brindan placer y bienestar, que es un síntoma presente en la depresión (Chrousos, 2009; Tachè & Selye, 1985). Por lo tanto, el sistema dopaminérgico es importante para generar respuestas emocionales, seleccionar y procesar información, mantener la capacidad hedónica y de recompensa ante el aprendizaje, y para reaccionar ante una perturbación ambiental y poder adaptarse de manera exitosa (Tachè & Selye, 1985).

1.1.1.5 Sistema serotoninérgico

La serotonina es un neurotransmisor con una amplia influencia en varias funciones cerebrales, como la ingesta de alimento, el sueño, la termorregulación, la conducta sexual, la función cardiovascular, locomoción, regulación endócrina, aprendizaje, memoria y afectividad (Lanfume *et al.*, 2008). La serotonina se sintetiza por neuronas en el núcleo del rafé, con proyecciones a diversas áreas del cerebro, particularmente al hipocampo (Millan, 2003).

Los receptores a serotonina 5-HT₁ al 5-HT₇, a excepción del receptor 5-HT₃, son receptores metabotrópicos, y están encargados de regular diferentes procesos en el organismo. Para la regulación de la respuesta al estrés y a otros estados emocionales, están involucrados principalmente los receptores 5-HT_{1A} (Lanfume *et al.*, 2008).

La serotonina está involucrada en varios procesos como son la ansiedad, la alerta, la agresión, los estados afectivos, la impulsividad y la regulación de la ingesta (Duval *et al.*, 2010). La serotonina regula la actividad del eje HPA, ya que puede incrementar la secreción de corticosterona a nivel adrenal y producir un cambio en la corteza prefrontal medial, en el núcleo accumbens, amígdala, en el LC e hipotálamo lateral (Kaehler *et al.*, 2000). La serotonina produce una activación prioritaria en

la corteza cerebral cuando se presenta condiciones asociadas al miedo (Vermetten & Bremner, 2002).

1.1.1.6 Neuropéptidos

Los neuropéptidos son mediadores de la respuesta al estrés y en la ansiedad. Los neuropéptidos principales son los opioides, la somatostatina, la neurotensina y el neuropéptido Y (Duval *et al.* 2010). Los opioides están involucrados principalmente en la analgesia inducida por el estrés; la somatostatina es el mayor inhibidor de la secreción de la hormona del crecimiento, y está distribuida en todo el cerebro, pero su mayor concentración está en el núcleo paraventricular del hipotálamo, la amígdala, hipocampo, corteza, área preóptica medial y núcleo accumbens (Duval *et al.* 2010). Por otra parte, la neurotensina se encarga de modular la temperatura corporal y procesar la información nociceptiva; y el neuropéptido Y funciona como ansiolítico al disminuir los efectos de otros péptidos como el CRF y se encuentra en núcleos del tallo cerebral, en el núcleo accumbens, la amígdala, hipotálamo y corteza cerebral (Vermetten & Bremner, 2002).

1.1.1.7 Otros neurotransmisores

Otros neurotransmisores importantes son el glutamato y el ácido γ -amino-butírico (GABA). El glutamato es un neurotransmisor excitador que está involucrado en la neuroplasticidad a largo plazo, la migración y la viabilidad neuronal (Duval *et al.* 2010). Ante la exposición al estrés, se produce un aumento en su secreción en la corteza prefrontal e hipocampo lo cual puede desencadenar el proceso de estrés oxidativo, inducir excitotoxicidad, daños a nivel neuronal y apoptosis (McEwen & Stellar, 1993; Duval *et al.*, 2010). De la misma manera, hay un decremento en los receptores GABA_A, los cuales son los principales moduladores inhibitorios de las neuronas dopaminérgicas (McEwen & Stellar, 1993). Los receptores GABA_A funcionan como moduladores de la conducta emocional y los estados de ánimo (Vermetten & Bremner, 2002). Los receptores GABA_A han sido muy estudiados para el desarrollo de drogas ansiolíticas, ya que la mayoría de estos fármacos impactan en este receptor (Millan, 2003).

1.1.2 Trastornos de ansiedad

Los trastornos de ansiedad se caracterizan por sentimientos de aprensión, inquietud, preocupación intensa y esfuerzos conductuales por enfrentarlos (Sarason & Sarason 2006). Las categorías principales de estos trastornos son las fobias y los ataques de pánico, el trastorno de estrés postraumático, el trastorno obsesivo-compulsivo y la ansiedad generalizada (Wiedmann, 2015).

Las fobias se caracterizan por la presencia de ansiedad, miedo desproporcionado y una conducta de evitación, que son detonados por un estímulo específico e identificable como, por ejemplo, los animales, las alturas o los espacios cerrados (Rains, 2004). Los ataques de pánico, que consisten en la aparición súbita de miedo y ansiedad manifestada junto con síntomas como aceleración del ritmo cardiaco, dificultad para respirar, mareos, sensación de desrealización y despersonalización, no se consideran como un trastorno mental, pero son parte de los trastornos de ansiedad (Wiedmann, 2015). De la misma manera, en el trastorno de estrés postraumático, están presentes varios síntomas como son la ansiedad, recuerdos intrusivos y desagradables, malestar anímico significativo, alteraciones importantes de la alerta y reactividad asociada a un estímulo o suceso traumático bien definido (Rains, 2004). El trastorno obsesivo compulsivo también se caracteriza por la existencia de un foco identificable de ansiedad, que consiste en pensamientos, impulsos o imágenes persistentes y recurrentes que causan ansiedad y malestar, y como estrategia para neutralizar estas imágenes, el sujeto presenta las compulsiones, que son comportamientos o actos mentales repetitivos, los cuales son excesivos y no realistas en relación con su objetivo (Rains, 2004). Por último, el trastorno de ansiedad generalizada, que consiste en presentar una preocupación excesiva, ansiedad, y un estado de activación hacia un estímulo estresor no específico (Tyrrer & Baldwin, 2006).

En este trabajo nos enfocaremos en la ansiedad generalizada, debido a que en este trastorno la ansiedad se presenta de manera difusa y no está presente un foco o estímulo reconocible que detone la ansiedad, a diferencia de los trastornos antes descritos.

1.1.2.1 Trastorno de ansiedad generalizada

De acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales versión 5 (DSM-5, American Psychiatric Association 2014) este trastorno se caracteriza por presentar una ansiedad excesiva y aprensión en relación con diversos sucesos o actividades, de tal manera que para el sujeto le es casi imposible controlar la preocupación. Este trastorno se identifica cuando no hay un estímulo específico que dispare la ansiedad y están presentes sentimientos crónicos de ansiedad que no están relacionados con algo en particular. Este trastorno incluye los síntomas de inquietud, dificultad para concentrarse, irritabilidad, tensión muscular y alteraciones en el sueño (Anderson, Noyes, & Crowe, 1984).

El trastorno de ansiedad generalizada comúnmente se encuentra asociado al consumo de drogas, entre ellas, el alcohol (Tyrrer & Baldwin, 2006)

1.1.3 Comorbilidad y patología dual

La comorbilidad se refiere a la presencia de dos o más trastornos conjuntamente dentro de una misma categoría de diagnóstico o de una categoría diferente (American Psychiatric Association, 2014). Los trastornos de ansiedad comparten síntomas de forma significativa con los trastornos somatoformes, psicósomáticos, disfunciones sexuales, alteraciones del sueño, alcoholismo y drogadicción, de manera que se ha sugerido que la ansiedad es una característica central en casi todos los trastornos psicopatológicos (American Psychiatric Association, 2014; Sandín & Chorot, 2008). De igual manera, se ha reportado que el 90% de los individuos con trastorno de ansiedad generalizada padecen de otro trastorno psiquiátrico como la depresión u otro trastorno de ansiedad (Stein, 2001). La comorbilidad de otro trastorno psiquiátrico o psicológico con el trastorno de ansiedad generalizada pueden alterar el desarrollo, el diagnóstico y el pronóstico del individuo con trastorno de ansiedad generalizada (Noyes, 2001).

1.2 Sueño

Antiguamente el sueño se había definido como la ausencia de la vigilia o la suspensión de la capacidad sensorial, en la que las funciones voluntarias dejan de ser operativas y las funciones involuntarias como la respiración no son suspendidas (Lee-Chiong, 2008). Actualmente, el sueño se define en función de la conducta del sujeto y de los cambios fisiológicos que ocurren en los diferentes estados de la actividad cerebral y como un fenómeno activo (Chokroverty, 2011).

El sueño es un estado neurológico complejo generado por diferentes sistemas neuronales a través de la utilización de varios neurotransmisores, y es regulado de manera homeostática y circádica (Lee-Chiong, 2008).

Las características conductuales del sueño consisten en la falta de movilidad, presencia de ojos cerrados, la adopción de una postura específica para el reposo, la reducción de la respuesta a los estímulos externos y el incremento del tiempo de reacción a estos, la inactividad, la elevación del umbral para despertar y la reducción de la actividad cognitiva, que consiste en un estado inconsciente reversible (Chokroverty, 2011). Los criterios fisiológicos se basan en datos obtenidos mediante la polisomnografía, la cual consiste en el registro simultáneo de la electroencefalografía (EEG), electrooculografía (EOG) y electromiografía (EMG), la videofilmación de la conducta, además

de otros signos fisiológicos como son el cambio en el ritmo respiratorio o cardiaco, los movimientos de las extremidades, flujo de aire y de la temperatura corporal (Lee-Chiong, 2008).

El sueño es esencial para el mantenimiento de un funcionamiento fisiológico óptimo, y se han propuesto varias funciones que tiene sobre el organismo:

- a) Función restaurativa y de restablecimiento de los tejidos corporales y cerebrales. Durante el sueño ocurre la secreción de hormonas anabólicas como la hormona de crecimiento, la prolactina y la testosterona; así como también se produce también la síntesis de macromoléculas como ácidos nucleicos y de proteínas (Adam, 1980).
- b) Conservación de la energía. Durante el sueño se facilita la síntesis de las moléculas que protegen a las neuronas del estrés oxidativo y se eliminan toxinas (Schmidt, 2014; Scharf, *et al.*, 2008).
- c) Consolidación de la memoria. La modulación de los procesos de memoria se da debido a las fluctuaciones hormonales y de neurotransmisores que eliminan la información no relevante y se consolida la memoria a largo plazo, así como la memoria declarativa y procedimental (Walker & Stickgold, 2004; Smith, 2001).
- d) Mantenimiento de redes sinápticas y neuronales activadas durante la vigilia (Smith, 1996; Giuditta *et al.*, 1995).
- e) Limpieza de los desechos del SNC a través del sistema glinfático. El sueño permite la eliminación de metabolitos neurotóxicos del cerebro que se acumulan durante la vigilia como la proteína tau, lactato y β -amiloide, la cual es un marcador de la enfermedad de Alzheimer (Iliff *et al.*, 2012). El mecanismo de eliminación del cerebro depende del transporte de líquido cerebroespinal, similar al sistema linfático en tejidos periféricos que también dependen de la glía. Este sistema consiste en vías perivasculares por las que el líquido cerebroespinal entra al parénquima cerebral y se mezcla con el líquido intersticial para salir del cerebro a través del drenaje venoso (Abbott *et al.*, 2018). La actividad glinfática es mínima durante la vigilia, pero alta durante el sueño de ondas lentas y en el estado de anestesia, en los que existe una actividad eléctrica de baja frecuencia (<0.5-4 Hz) (Hablitz *et al.*, 2019). Debido a esto, ha sugerido recientemente que el sistema glinfático tiene un papel importante en la regulación homeostática del sueño, ya que presenta una mayor actividad durante una densidad de actividad delta (<0.5-4 Hz) durante el sueño de ondas lentas, lo cual es un indicador de la presión del sueño (Hauglund *et al.*, 2020).

El sueño se divide en dos tipos, el sueño sin movimientos oculares rápidos o también conocido como sueño de ondas lentas (SOL), y el sueño con movimientos oculares rápidos (MOR). En humanos, el SOL se divide en tres fases, denominadas N1, N2 y N3 (Chokroverty, 2011), con características electroencefalográficas diferentes que son:

- Fase N1 se caracteriza por una disminución de la frecuencia EEG hacia ritmo theta de 4-8 Hz en donde hay un ligero umbral para despertar.
- Fase N2 se presentan los husos del sueño, que son breves disparos simultáneos con una frecuencia de 12-14 Hz y los complejos K, que son ondas agudas y repentinas que ocurren 1 vez por minuto.
- Fase N3 se caracteriza por un predominio de actividad EEG lenta de 0.5-4 Hz (banda delta) que se acompaña de un alto umbral para despertar (Berry *et al.*, 2017).

Las tres fases del SOL son seguidas del sueño MOR, donde hay una transición hacia una actividad desincronizada, en la que está presente una actividad beta en la corteza cerebral (12-30 Hz), ritmo theta en el hipocampo (4-8 Hz), atonía muscular y movimientos oculares rápidos. La actividad cerebral durante el sueño MOR es similar a la actividad observada durante la vigilia (Berry *et al.*, 2017), por lo que Michael Jouvet lo denominó como sueño paradójico, con una actividad cortical similar a la de la vigilia, pero con la presencia de atonía muscular (Jones, 2018).

La vigilia se caracteriza por un predominio de ritmo alfa (8-13 Hz) mezclado con una pequeña cantidad de ritmo beta (>13 Hz) y ritmo theta (4-8 Hz). Este estado se puede acompañar de movimientos oculares verticales, horizontales y oblicuos, tanto lentos como rápidos (Chokroverty, 2011).

Normalmente, un sujeto adulto tendrá de 3 a 5 ciclos de sueño SOL-MOR que se presentan cada 90 min durante la noche, en la cual las fases N2 y N3 son más prominentes en la primera mitad de la noche y en cada ciclo el sueño MOR se produce un alargamiento progresivo desde 9 hasta los 25 minutos en el último episodio de sueño MOR (Kandel, 2001). Para conocer de manera objetiva la distribución de los ciclos de sueño SOL-MOR, se utilizan los hipnogramas, los cuales son representaciones gráficas de la sucesión de las etapas del sueño durante la noche (véase Figura 3).

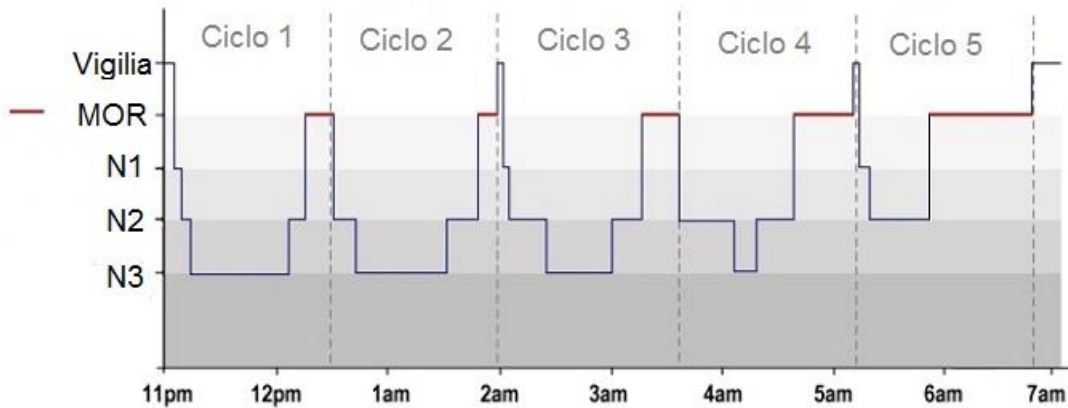


Figura 3. Hipnograma de los ciclos de sueño en humanos. Durante la primera mitad de la noche existe un predominio sueño SOL y durante la segunda mitad de la noche hay un predominio de sueño MOR. Modificado de Lee-Chiong (2008).

En el caso de animales mamíferos pequeños, el sueño es polifásico, es decir, el animal presenta varios ciclos de sueño durante el ciclo circádico, teniendo un predominio de estos en las fases de luz o de oscuridad (Nicolau *et al.*, 2000). Para el estudio del sueño en la rata, generalmente sólo se considera el sueño MOR y el SOL sin la subdivisión de sus etapas, esto con el objetivo de simplificar la caracterización de su sueño (Simasko & Mukherjee, 2009). Las ratas, tienen un sueño polifásico, y siendo un animal nocturno, tienen un predominio de los episodios de sueño en la fase de luz, mientras que en la fase de oscuridad tienen episodios de vigilia de mayor duración como se muestra en el hipnograma de la Figura 4 (Simasko & Mukherjee, 2009).

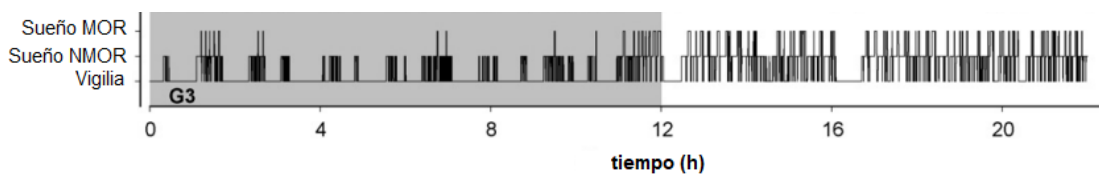


Figura 4. Hipnograma del ciclo sueño-vigilia de una rata Sprague-Dawley. En la porción sombreada que representa a la fase de oscuridad, que es la fase de actividad de la rata, se observa un predominio de la vigilia, mientras que en la porción iluminada que representa a la fase de luz, que es la fase de reposo de las ratas, los ciclos de sueño son más frecuentes y hay un menor número de despertares prolongados, lo que indica un predominio del sueño. Modificado de Simasko & Mukherjee (2009).

Al igual que en los humanos, las ratas también tienen actividad polisomnográfica que caracteriza a la vigilia y a los diferentes tipos de sueño. En la vigilia está presente una actividad cortical rápida de 12-30 Hz y de baja amplitud, actividad muscular y movimientos oculares que dependen de la conducta del animal (Gottesmann, 1992). Durante el SOL existe una actividad EEG más lenta de 0.5 a 4 Hz, que corresponde a la actividad delta, hay movimientos oculares oscilatorios y de balanceo lento y una disminución del tono muscular. Por último, en el sueño MOR está presente una actividad EEG de 4-8 Hz en el hipocampo, correspondiente a la actividad theta, movimientos oculares rápidos y atonía muscular (Gottesmann, 1992).

El sueño obedece a dos principales procesos: el proceso circadiano (proceso C) y al proceso homeostático (proceso S). El proceso C se refiere a la regulación del sueño a partir de nichos temporales exógenos o *Zeitbergs* (Dijk, 2013), los cuales también regulan la secreción de hormonas, el aumento de la temperatura corporal y otros procesos metabólicos con una duración cíclica de ~24 h (Krueger *et al.*, 1999). La transición de la fase de oscuridad a la fase de luz un de los *Zeitbergs* más importantes (Lee-Chiong, 2008). Por otra parte, el proceso S se caracteriza por la presión del sueño, que se refiere a la necesidad de conciliar el sueño después de un periodo prolongado de vigilia (Lee-Chiong, 2008). Los procesos C y S actúan de manera coordinada, ya que después de un periodo de reposo, la presión del sueño es mínima y la luz solar de la mañana aumenta el estado de alerta; sin embargo, a lo largo del día aumenta la presión del sueño y la activación y el estado de alerta de organismo comienza a reducirse por la tarde en la que la ocurre la transición a la fase de oscuridad (Kandel, 2001). La cantidad y eficiencia del sueño puede modificarse con la alteración de alguno de estos procesos, por ejemplo, el desfase en el horario del ciclo de luz-oscuridad, o la privación del sueño producen cambios en su arquitectura y duración, que a su vez aumenta la probabilidad de desarrollar alguna patología física o mental, malestar general, irritabilidad, fatiga, dificultades para concentrarse, síntomas depresivos y ansiedad en los sujetos, además de aumentar su probabilidad de fumar o de consumir alcohol e incluso de desarrollar síndrome metabólico (Strine & Chapman, 2005).

1.2.1 Fisiología del sueño

El sueño no es un estado unitario, sino es un continuo de varios estados mixtos. El inicio y mantenimiento del sueño MOR y SOL es un proceso activo específico de ciertos grupos neuronales que forman una red localizada en el mesencéfalo caudal, el puente de Varolio, y en regiones de la corteza cerebral (Datta & MacLean, 2007; Saper *et al.*, 2001). Estudios con lesiones en animales,

estudios clínicos en humanos y registros de células individuales han servido para conocer la localización y función de algunas áreas primordiales involucradas en el inicio, regulación y mantenimiento del sueño y de la vigilia (Datta & MacLean, 2007).

1.2.1.1 Sistemas promotores y de mantenimiento de la vigilia

En mamíferos existen varios sistemas que promueven la vigilia, la activación individual de estos sistemas contribuye de manera específica para mantener el estado de la vigilia.

- a) **Neuronas noradrenérgicas localizadas en el locus coeruleus.** Estas tienen proyecciones directamente hacia la corteza cerebral, el hipocampo, la amígdala y otras áreas subcorticales como el tálamo, el hipotálamo y el mesencéfalo basal. La activación de estas células está involucrada en la activación cortical y en los signos conductuales de la vigilia, ya que el nivel de disparo máximo de estas células se da durante la vigilia activa, se reduce en la vigilia quieta y en el SOL, deteniéndose completamente durante el sueño MOR (Aston-Jones *et al.*, 1986). Además, se ha comprobado que estas células responden a estímulos excitadores externos al incrementar su frecuencia de disparo. Previo a los signos fisiológicos y conductuales de la vigilia, la actividad del locus coeruleus se incrementa, lo que sugiere que estas células pueden anticipar los despertares espontáneos (Aston-Jones & Bloom, 1981). Por lo tanto, una activación o inactivación de las neuronas del locus coeruleus resultan en un incremento o decremento de la vigilia, respectivamente. También se ha sugerido que en condiciones de estrés la activación de estas células es crítico en la generación de una activación interna que promueve e intensifica la vigilia (Aston-Jones & Bloom, 1981).
- b) **Neuronas serotoninérgicas en el núcleo del rafé dorsal.** Estas neuronas también tienen proyecciones hacia la corteza cerebral, amígdala, hipocampo, tálamo, hipotálamo y mesencéfalo basal (Aghajanian *et al.*, 1978). Se ha reportado que estas células tienen el rango de disparo más alto durante la vigilia, se reduce durante el SOL y cesa por completo en el sueño MOR. Por lo tanto, con base en este patrón de descarga, se ha sugerido que estas células promueven la vigilia, pero no pueden predecir las transiciones del sueño a la vigilia como las neuronas noradrenérgicas, y que por lo tanto no pueden ser las causantes de la activación cortical ni de la promoción de la vigilia, pero pueden ser responsables para el mantenimiento de esta (Datta *et al.*, 1987).
- c) **Células colinérgicas del tegmento pedúnculo pontino y del tegmento dorsolateral.** Estas células tienen proyecciones directas a varias áreas subcorticales, pero no inervan

- directamente a la corteza cerebral. La activación de estas células promueve la vigilia al activar los sistemas tálamo-cortical, hipotálamo-cortical, basal-cortical, el núcleo supraquiasmático y amigdalino, que son sistemas promotores de la vigilia del mesencéfalo (Datta & MacLean, 2007). Estas células están implicadas en varias conductas promotoras de la vigilia como lo son la atención, el procesamiento sensorial y el aprendizaje (Fibiger, 1991).
- d) **Neuronas glutamatérgicas en la formación reticular del mesencéfalo.** Estas neuronas están más activas durante la vigilia que en el SOL. El incremento del rango de disparo de estas células precede a la aparición de la activación EEG de la transición conductual espontánea del sueño NMOR a la vigilia (Datta & MacLean, 2007).
 - e) **Neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra pars compacta y del área tegmental ventral.** Estas neuronas tienen un incremento en la frecuencia de disparo asociado a un estado de alerta. Las concentraciones extracelulares de dopamina son más elevadas durante los periodos de vigilia. Esto sugiere que la liberación de dopamina estimula la activación central del organismo (Smith, Olson, & Justice Jr., 1992).
 - f) **Células histaminérgicas en el hipotálamo posterior y en el núcleo tuberomamilar.** Estas células tienen proyecciones difusas a diferentes partes del cerebro, incluyendo la corteza cerebral y las estructuras promotoras de la vigilia en el tallo cerebral y en el mesencéfalo. Las neuronas histaminérgicas estimulan la vigilia conductual a través de proyecciones hacia los sistemas promotores de la vigilia tálamo-corticales y basal-cortical. La mayoría de estas neuronas están mayormente activas durante la vigilia, cesan su actividad durante en el sueño y reanudan su actividad antes de despertar, lo que sugiere que estas células promueven la vigilia (Takahashi, Lin, & Sakai, 2006).
 - g) **Las neuronas orexinérgicas en el hipotálamo lateral.** Estas neuronas tienen proyecciones difusas en el sistema nervioso central. Los niveles más altos de orexinas se dan durante la vigilia, especialmente durante periodos de actividad motora. Por lo tanto, estas neuronas pueden ser promotoras de la vigilia al excitar sistemas primarios promotores de la vigilia del cerebro como lo son el tegmento pedúnculo pontino, el locus coeruleus, el núcleo del rafé dorsal, la formación reticular mesencefálica, el área ventral tegmental y el núcleo tuberomamilar (Bayer *et al.*, 2001).

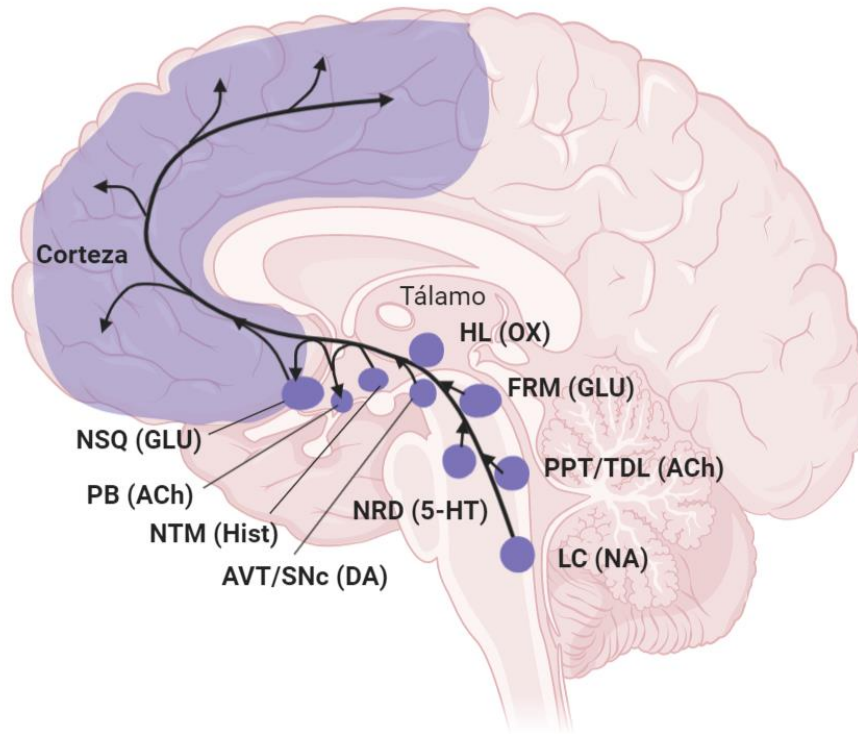


Figura 5. Sistemas generadores y reguladores de la vigilia. Núcleos desde el tallo cerebral y el mesencéfalo basal promueven y mantienen la vigilia a través de proyecciones ascendentes que pasan por el tálamo hasta la corteza cerebral. Las proyecciones ascendentes desde el tallo cerebral que sintetizan acetilcolina (ACh) en el tegmento pedúnculo pontino (PPT) y en el tegmento dorso lateral (TDL) junto con las noradrenérgicas (NA) del locus coeruleus (LC), serotoninérgicas (5-HT) del núcleo del rafé dorsal (NRD) y las glutamatérgicas (GLU) de la formación reticular mesencefálica (FRM) que activan la red tálamo-cortical, además de las proyecciones dopaminérgicas (DA) del área tegmental ventral (ATV) y de la sustancia nigra pars compacta (SNc). Otros núcleos histaminérgicos (Hist) del núcleo tuberomamilar (NTM) y colinérgicos (ACh) del prosencéfalo basal (PB), además de las células GLU del núcleo supraquiasmático (NSQ) y del hipotálamo lateral (HL) tienen conexiones a la corteza cerebral, los cuales son responsables de la activación cortical durante la vigilia. La activación de estas regiones está regulada por la actividad orexinérgica (OX) del hipotálamo lateral (HL), y esta actividad cesa o desaparece durante el sueño. Modificado de Datta y MacLean (2007).

Las células del núcleo supraquiasmático, también conocido como reloj biológico principal, tienen un mayor nivel de activación durante la vigilia, por lo que se ha propuesto que ésta es un área promotora de la vigilia (Datta & MacLean, 2007). También las neuronas en la corteza prefrontal, especialmente en las regiones dorsales como la corteza cingulada anterior que está asociada con conductas motoras; y en las regiones ventrales como la corteza prelímbica e infralímbica que están

asociadas con procesos emocionales, cognitivos y de memoria, al tener una hiperactividad pueden incrementar la vigilia al prevenir el inicio del sueño (Datta & MacLean, 2007).

Este sistema de núcleos neuronales también contribuye en la generación del SOL y del sueño MOR, al ser inactivados por medio de un mecanismo de “sube y baja” en el que participan principalmente neuronas GABAérgicas y orexinérgicas (Brown *et al.*, 2012).

1.2.1.2 Sistemas promotores y de mantenimiento del sueño de ondas lentas

El sueño de ondas lentas es considerado como el estado de menor actividad cerebral, en el cual las respuestas a estímulos externos por las neuronas sensoriales del tálamo se suspenden (Datta & MacLean, 2007). Las regiones del área preóptica del hipotálamo como el área ventro-lateral o la medial son las responsables en la generación del SOL (John *et al.*, 1994).

Las neuronas del área preóptica del hipotálamo activas durante el sueño contienen en su mayoría GABA y galanina (Gottesmann, 2002). Estas células inervan a la mayoría de las áreas promotoras de la vigilia, incluyendo el núcleo tuberomamilar, el hipotálamo lateral, el locus coeruleus, el núcleo del rafé dorsal y el tegmento pedúnculo pontino, por lo tanto, es posible que un incremento en la actividad en estas neuronas en el área preóptica del hipotálamo pueda liberar GABA hacia estas áreas promotoras de la vigilia e inhibir su tono de disparo (Brown *et al.*, 2012; Datta & MacLean, 2007). El GABA puede influir en estas áreas de dos maneras: al activar los receptores de GABA o al inhibir los neurotransmisores presinápticos necesarios para activar a las células promotoras de la vigilia (Gottesmann, 2002).

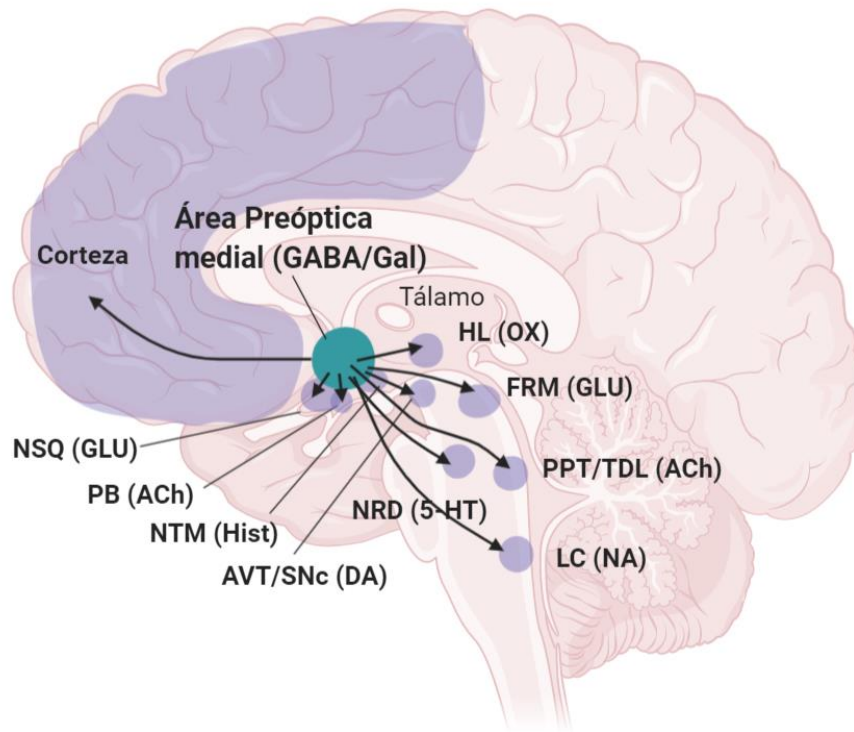


Figura 6. Sistemas encargados de la generación y mantenimiento del sueño de ondas lentas.

Las neuronas del área preóptica medial que sintetizan GABA y galanina (Gal), suprimen la actividad de los núcleos promotores de la vigilia como la corteza prefrontal (área sombreada en morado), el núcleo supraquiasmático (NSQ), el prosencéfalo basal (PB) y el área ventral tegmental (AVT), la sustancia nigra pars compacta (SNc) y la formación reticular mesencefálica (FRM), promoviendo así el sueño de ondas lentas. HL=hipotálamo lateral, PPT=tegmento pedúnculo pontino, TDL= tegmento dorsal lateral, LC=locus coeruleus, NRD= núcleo del raqué dorsal, NTM=núcleo tuberomamilar. Modificado de Datta y MacLean (2007).

El péptido de la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH) también puede ser inductor de SOL. Estudios en ratas han reportado que los niveles más altos de GHRH ocurren durante el periodo de luz, que es cuando las ratas tienen una mayor cantidad de SOL, y hay una reducción importante durante el periodo de oscuridad cuando las ratas tienen una mayor cantidad de vigilia (Brown *et al.*, 2012). Además, se ha demostrado que los niveles de GHRH en el hipotálamo están más elevados después de la privación del sueño. Para la inducción del SOL, el GHRH se libera al área preóptica del hipotálamo y se une a los receptores de GHRH para activar las células GABAérgicas en el área preóptica del hipotálamo (Datta & MacLean, 2007).

1.2.1.3 Sistemas promotores del sueño MOR

A diferencia del sueño de ondas lentas, la regulación del sueño MOR es más compleja. En un principio, Hobson y cols., en 1975 propusieron el modelo de interacción recíproca para explicar la regulación del sueño MOR. En este modelo se propone que dos grupos de neuronas en la porción mesopontina interactúan de una manera recíproca produciendo la alternancia ultradiana del SOL y MOR en mamíferos (Hobson *et al.*, 1975). Estudios posteriores han confirmado que existen células colinérgicas promotoras del sueño MOR en el tegmento pedúnculo pontino y en el tegmento dorsal lateral, las cuales son excitadas postsinápticamente por la activación de receptores colinérgicos. Además, existen proyecciones de estos núcleos colinérgicos hacia la formación reticular del tallo cerebral, específicamente a la formación reticular pontina, la cual está involucrada en la generación de las características fisiológicas del sueño MOR como lo son la atonía muscular, los movimientos oculares rápidos y la actividad electroencefalográfica de alta frecuencia y de bajo voltaje (McCarley, 2007).

Contrariamente, existen células aminérgicas inhibitorias del sueño MOR, las cuales son noradrenérgicas y serotoninérgicas localizadas en el *locus coeruleus* y en el núcleo del rafé dorsal respectivamente; además de células histaminérgicas en el hipotálamo posterior y en el núcleo tuberomamilar, las cuales son inhibidas postsinápticamente por la activación de receptores noradrenérgicos y serotoninérgicos (Hobson *et al.* 1975). Estas células aminérgicas son activadas tónicamente por las orexinas del hipotálamo lateral (McCarley, 2007).

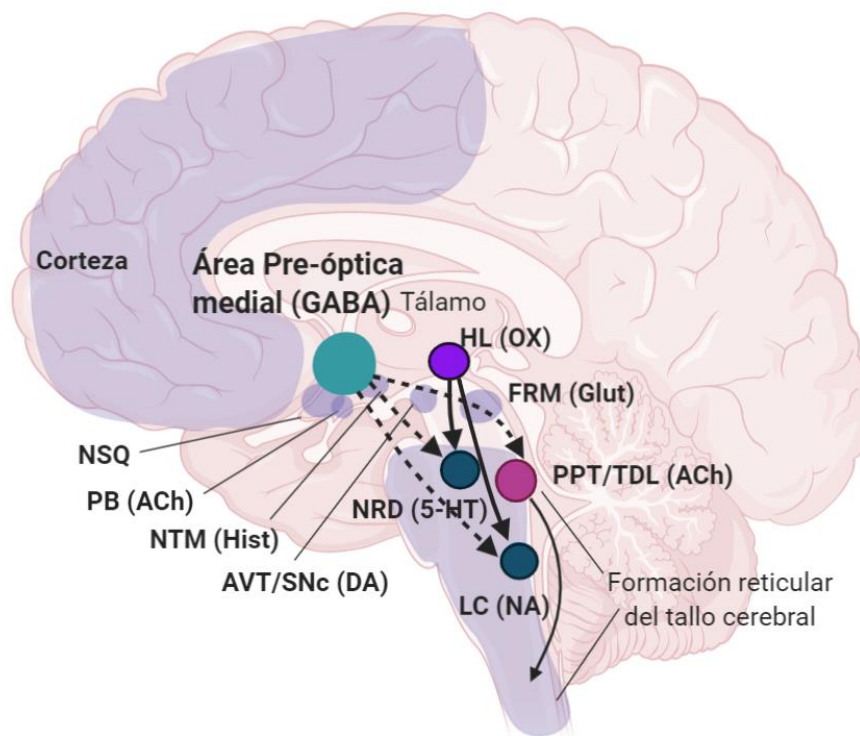


Figura 7. Estructuras cerebrales reguladoras del sueño con movimientos oculares rápidos. Las neuronas colinérgicas del tegmento pedúnculo pontino (PPT) y del tegmento dorsal lateral (TDL) promueven el sueño MOR, mientras que sus proyecciones a la formación reticular del tallo cerebral producen sus características fisiológicas. Las neuronas aminérgicas del núcleo del rafe dorsal (NRD) y del locus coeruleus (LC) promueven la vigilia al ser activadas por las orexinas del hipotálamo lateral (HL). La alternancia de la activación de los grupos colinérgicos y aminérgicos está mediada por la actividad GABAérgica del área preóptica medial (líneas punteadas). FRM=formación reticular mesencefálica, AVT=área ventral tegmental, SNc=sustancia nigra pars compacta, NTM=núcleo tuberomamilar, PB=prosencéfalo basal, NSQ=núcleo supraquiasmático. Modificado de Saper, Chou, & Scammell (2001).

La actividad de los sistemas aminérgicos y colinérgicos es muy similar durante la vigilia y al inicio del SOL. Durante la vigilia y en el SOL la proporción de los neurotransmisores colinérgicos y aminérgicos es 1:1; pero al inicio del sueño MOR la actividad de las células aminérgicas se reduce significativamente y hay un aumento en la actividad de las células colinérgicas (Hobson, McCarley, & Wyzinski, 1975).

Para la regulación de este sistema de interacción recíproca, existe una inhibición recíproca entre el área preóptica medial y los núcleos aminérgicos (Brown *et al.*, 2012). Cuando las neuronas del área

preóptica disparan de manera rápida y continua durante el sueño, inducen la inhibición de los núcleos aminérgicos, lo que a su vez produce un aumento de la actividad colinérgica, manteniendo así el estado de sueño. Al mismo tiempo el área preóptica produce inhibición a través de activación GABAérgica sobre las neuronas orexinérgicas del hipotálamo, las cuales son promotoras de la vigilia, al tener inervaciones a los núcleos aminérgicos y a las áreas promotoras de la vigilia (Saper *et al.*, 2001). Cuando los núcleos aminérgicos están activos durante la vigilia por acción de las orexinas en el hipotálamo lateral, estos inhiben la actividad del área preóptica y de los núcleos colinérgicos, manteniendo así el estado de vigilia (Datta & MacLean, 2007).

A esta interacción recíproca se le conoce como “sube y baja”, es decir, cuando el sujeto está despierto hay una actividad robusta y constante de los núcleos aminérgicos promotores de la vigilia, en donde están presentes neuronas “REM-off”, y una inhibición de los núcleos colinérgicos promotores del sueño MOR; contrariamente, cuando el sujeto está dormido hay una inhibición de los núcleos aminérgicos y una actividad robusta y constante de los núcleos colinérgicos con presencia de neuronas “REM-on”, las cuales están activas sólo durante el sueño MOR (McCarley, 2007).

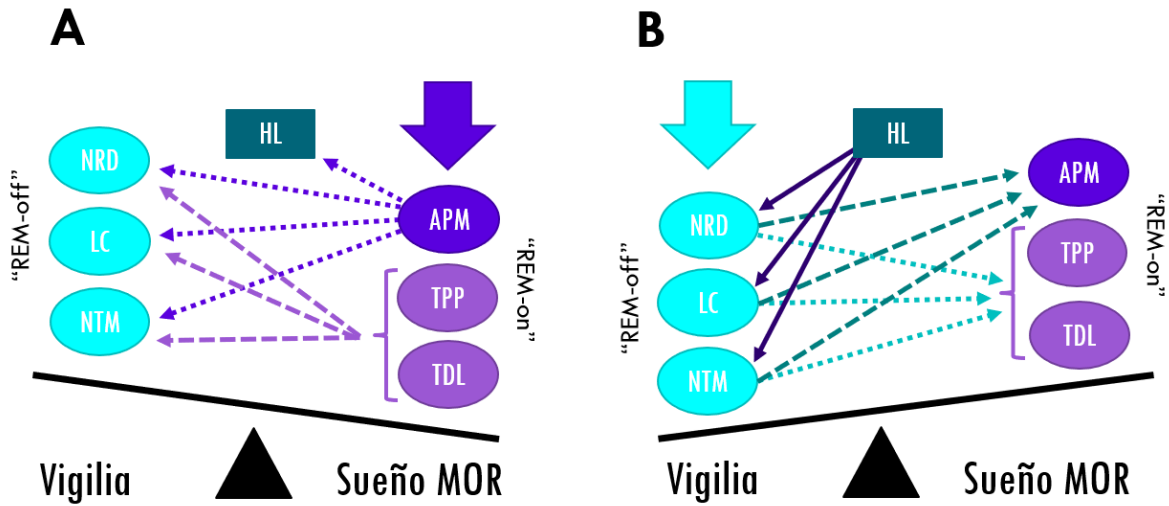


Figura 8. Modelo sube y baja para las transiciones a sueño con movimientos oculares rápidos.

A) En el sueño con movimientos oculares rápidos (MOR), la actividad de los núcleos colinérgicos tegmento pedúnculo pontino (TPP) y el tegmento dorsal lateral (TDL) que contienen neuronas “REM-on” sobrepasa a la actividad de los núcleos aminérgicos promotores de la vigilia que son el núcleo del rafé dorsal (NRD), el locus coeruleus (LC) y el núcleo tuberomamilar (NTM), los cuales junto con el hipotálamo lateral (HL) están siendo inhibidos por acción GABAérgica y galaninérgica del área preóptica medial (APM). **B)** En el estado de vigilia existe un predominio en la actividad de los núcleos histaminérgicos NRD, LC y NTM, los cuales contienen neuronas “REM-off” y son excitados por proyecciones orexinérgicas del HL, lo que al mismo tiempo inhiben la actividad del área preóptica medial y de los núcleos promotores del sueño con movimientos oculares rápidos (MOR). Las líneas punteadas representan un efecto inhibitorio. Modificado de Hobson (1975).

Este modelo crea un circuito de retroalimentación estable que sólo permite dos estados: activación-inhibición. Los patrones de activación de este sistema “sube-baja” son auto-reforzadores, tal que no permiten la transición de un estado a otro, sino que hay una transición de los estados que dependen de los factores homeostáticos y circádicos del ciclo sueño-vigilia (Saper, Chou, & Scammell, 2001; McCarley, 2007).

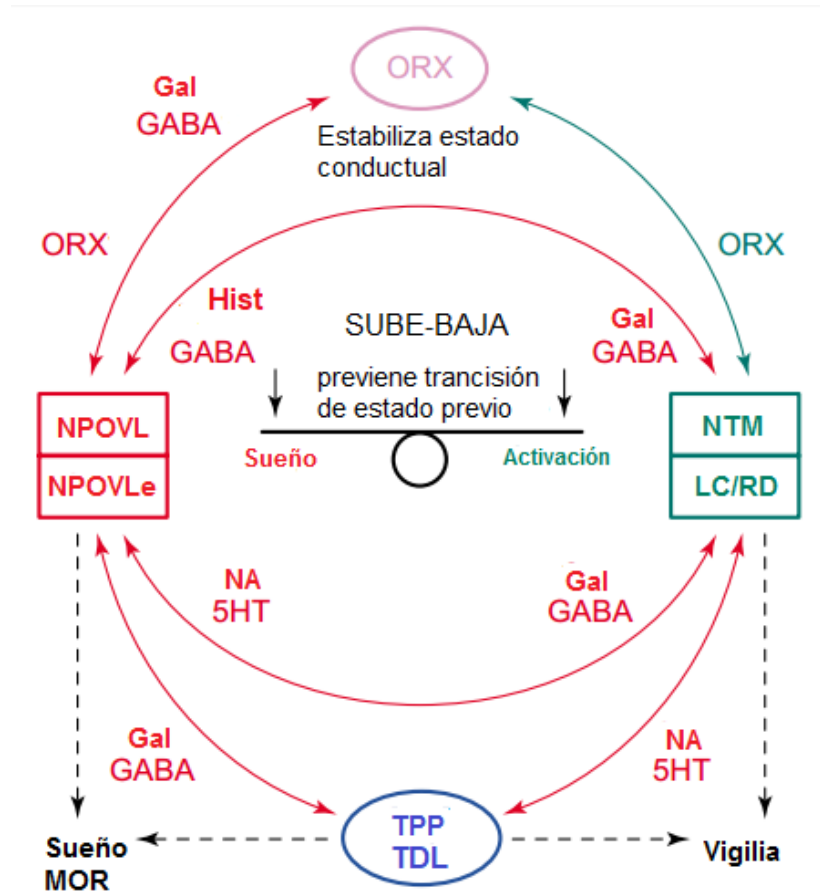


Figura 9. Modelo de interacción recíproca entre las regiones cerebrales promotoras del sueño y de la vigilia. Los núcleos aminérgicos promueven la vigilia a través de la excitación directa de la corteza cerebral y a través de la inhibición de las neuronas promotoras de sueño en el núcleo preóptico ventrolateral (NPOVL). Durante el sueño con movimientos oculares rápidos, el NPOVL inhibe las regiones promotoras de la vigilia mediante de proyecciones GABAérgicas y galaninérgicas (Gal). La mayoría de las proyecciones del núcleo tuberomamilar (NTM) se originan en el NPOV, mientras que las proyecciones del locus coeruleus (LC) y del rafé dorsal (RD) se originan en la porción extensa del NPOV (NPOVLe). EL NPOVLe promueve el sueño con movimientos oculares rápidos al desinhibir a las neuronas promotoras del tegmento pedúnculo pontino (TPP) y el tegmento dorsal lateral (TDL). Las neuronas orexinérgicas (ORX) estabilizan el estado conductual de vigilia al incrementar la actividad de las neuronas aminérgicas (Hist), lo que mantiene la inhibición de las neuronas promotoras del sueño con movimientos oculares rápidos en el TPP y el TDL. Las vías inhibitorias están mostradas en rojo y las excitadoras en verde. Los núcleos colinérgicos están mostrados en azul y los aminérgicos en verde. Las líneas punteadas negras indican la influencia de las regiones específicas en los estados conductuales del sueño y de la vigilia. Modificado de Saper, Chou, & Scammell (2001).

1.3 Consumo de alcohol

El consumo de alcohol es el tercer factor de riesgo más grande para varias enfermedades y discapacidades a nivel mundial, y que de acuerdo con el reporte del 2018 de la Organización Mundial de la Salud (OMS), es el primer factor de riesgo en países en vías de desarrollo (Horseman & Meyer 2019). Además, casi el 4% de muertes a nivel mundial pueden atribuirse a su consumo, y está asociado a varios problemas sociales que incluyen la generación de violencia, abuso y descuido infantil, accidentes automovilísticos y ausentismo laboral (World Health Organization, 2018).

A nivel global, la incidencia en el consumo de alcohol en la población mayor de 15 años de edad es de 30% (OMS, 2018); mientras en México la prevalencia de consumo de alcohol es del 49.1% en sujetos de 12 a 65 años de edad, de la cual un 2.2% de la población tiene dependencia al consumo de alcohol (Encuesta Nacional de Adicciones, ENCODAT, 2017).

Existen diferentes patrones en el consumo de alcohol, los cuales están determinados por la frecuencia del consumo, la dosis de alcohol ingerida, y el contexto del consumo. Si bien se ha reportado que a menor frecuencia del consumo de alcohol existe menos probabilidad para desarrollar la dependencia al alcohol, de sufrir algún tipo de accidente o adquirir alguna patología como cirrosis hepática, es importante relacionar los factores de la dosis de alcohol ingerida y el contexto social en el que se da el consumo (Antai *et al.*, 2014). Tomar diariamente un trago estándar con 14 g de etanol que equivalen a una cerveza, una copa de vino, o bien, a 45 ml de destilados durante la ingesta de alimentos producen efectos ansiolíticos, facilita el sueño y protege contra enfermedades cardiovasculares (Mcelduff & Dobson, 1997). Sin embargo, sobrepasar esta dosis estándar puede producir la tolerancia al alcohol y contribuir a desarrollar dependencia al alcohol (Galandra *et al.*, 2018). Por otra parte, la ingesta de grandes cantidades de alcohol en un periodo reducido, conocido como “*binge drinking*” o borrachera, también puede ser dañino, inducir tolerancia y desarrollar dependencia al alcohol (Antai *et al.*, 2014).

Es importante remarcar que en algunos individuos con un patrón de consumo “*binge drinking*” pueden no desarrollar dependencia al consumo al alcohol, conservar el control sobre la cantidad y la frecuencia del consumo, además de que no presenta problemas en áreas del funcionamiento interpersonal, laboral o de la salud (Erdozain & Callado, 2014). En cambio, existen individuos que presentan una mayor sensibilidad al alcohol y pueden desarrollar dependencia a su consumo, con una pérdida de control en la cantidad y la frecuencia del consumo de alcohol, además de producir problemas significativos en áreas del funcionamiento interpersonal y laboral del individuo,

ocasionar problemas a la salud y contribuir en el desarrollo de un trastorno por consumo de alcohol, el cual incluye el desarrollo de una alteración crónica del sueño, un incremento en la probabilidad de desarrollar cirrosis hepática, enfermedades cardiovasculares, pancreatitis y cáncer, e incrementa el riesgo de morir en accidentes o por causas violentas (Connor, Haber, & Hall, 2015).

De acuerdo con la quinta versión del Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM-V de la American Psychiatric Association, 2013), la dependencia al alcohol se define como un patrón desadaptativo de consumo de alcohol que conlleva a un deterioro clínicamente significativo durante un periodo continuo de 12 meses, y en donde se desarrolla tolerancia al consumo de alcohol y, con la suspensión del consumo, el síndrome de abstinencia; además de que el individuo incrementa su consumo de alcohol para evitar o aminorar los síntomas de la abstinencia, e invierte una mayor cantidad de tiempo en la búsqueda y en el consumo de alcohol, descuidando sus actividades regulares cotidianas (American Psychiatric Association, 2013).

Existen varios factores que influyen en el desarrollo de la dependencia al alcohol, entre los cuales se incluyen el patrón de consumo, una alta frecuencia de consumo junto con la ingesta de dosis altas de alcohol que interactúan con factores psicobiológicos como la sensibilidad al alcohol, en la cual se desarrolla la tolerancia al consumo así como de un agravamiento de los síntomas aversivos del síndrome de abstinencia después de la suspensión del consumo de alcohol (Becker, 2009), factores genéticos (Gaviria *et al.*, 2016), factores psiquiátricos como la presencia de un trastorno del estado del ánimo como la ansiedad y la depresión (Kushner *et al.*, 2000), o algún otro trastorno psiquiátricos como un trastorno del sueño (Brower *et al.*, 2001), además de factores conductuales y psicosociales (Keyes *et al.*, 2011).

1.3.1 Efectos de la ingesta de alcohol en la ansiedad

Los individuos con un trastorno de ansiedad son más propensos a desarrollar dependencia al consumo de alcohol, que a sólo abusar en su consumo, y esto puede deberse a que el consumo de alcohol se hace con el fin de aminorar los síntomas de la ansiedad (Smith & Randall, 2012). Esta comorbilidad dificulta el éxito del tratamiento, ya que el trastorno por consumo de alcohol afecta negativamente al trastorno de ansiedad y viceversa (Smith & Randall, 2012), de manera que un trastorno exacerba al otro.

1.3.2 Efectos de la ingesta de alcohol en el sueño

Los trastornos del sueño consisten en una alteración importante y grave del sueño, cuyos síntomas aparecen durante o después de la intoxicación, incluso después del periodo de abstinencia (Kushner

et al., 2000). En este caso, el alcohol es el causante directo de los síntomas de malestar, es decir, no existían alteraciones del sueño en el sujeto previo al inicio del consumo de alcohol. Las principales alteraciones en el sueño producidas por el consumo de alcohol son:

- Insomnio: Consiste en la dificultad para conciliar o mantener el sueño, acompañado de despertares nocturnos frecuentes, y subjetivamente el sujeto reporta un sueño no reparador (Brower *et al.*, 2001).
- Somnolencia diurna: Existe un predominio de somnolencia excesiva o fatiga durante las horas de vigilia (Ebrahim *et al.*, 2013).
- Parasomnias: Incluyen la presencia de comportamientos anormales durante el sueño (Ebrahim *et al.*, 2013).
- Alteraciones mixtas: Incluyen la presencia de diversos tipos de síntomas del sueño, pero sin predominio claro de ninguno de ellos (Conroy & Arnedt, 2014).

Las alteraciones en el sueño difieren de la etapa del consumo de alcohol en la que se encuentra el sujeto. Durante la intoxicación, hay una disminución de la latencia de sueño, un aumento del tiempo total de sueño, pero de baja eficacia; mientras que durante los periodos de abstinencia hay un aumento de la latencia de sueño, una disminución del tiempo total de sueño y un aumento de su eficacia (Conroy & Arnedt, 2014).

Los efectos de la intoxicación por alcohol en el sueño son dependientes de la dosis ingerida. En humanos, la ingesta moderada, 1-2 copas (0.5 mg/Kg), produce un incremento del sueño MOR, aumenta la latencia a sueño MOR y reduce el SOL en su etapa N3. Dosis moderadas de alcohol, 2-4 copas (0.74 mg/Kg), así como dosis elevadas, con más de 4 copas (>0.74 mg/Kg), producen una reducción del sueño MOR (MacLean & Cairns, 1982). Todas las dosis anteriores producen una reducción de la latencia de sueño y aumentan el SOL únicamente durante la primera mitad de la noche (Ebrahim *et al.*, 2013; Garcia & Salloum, 2015). Además, se ha reportado que la ingesta de alcohol produce un incremento de ronquidos y exacerba la apnea obstructiva del sueño, lo que a su vez deteriora la eficacia del sueño (Garcia & Salloum, 2015).

Cabe mencionar, que las alteraciones en el sueño MOR se consideran también como un factor importante para la recaída en el consumo de alcohol (Brower, 2015). Esto indica que, a pesar de las propiedades somníferas del alcohol durante un consumo agudo, el consumo de alcohol afecta de

manera importante los sistemas de neurotransmisores que regulan el ciclo sueño-vigilia (Conroy & Arnedt, 2014), lo que produce alteraciones ulteriores.

1.3.3 Neurobiología del alcohol

La ingesta de alcohol produce cambios en varias funciones cerebrales, afectando a varias vías neurales y sistemas de neurotransmisores (Moussas *et al.*, 2009).

Primeramente, el alcohol es metabolizado en el hígado por dos enzimas, que lo convierten en ácido acético (Lieber, 1984):

- a) La enzima alcohol-deshidrogenasa (ADH) y el sistema de oxidación microsomal (MEOS) metaboliza el alcohol en acetaldehído.
- b) La aldehído deshidrogenasa (ALDH) transforma el acetaldehído en ácido acético.

El alcohol atraviesa la barrera hematoencefálica e interactúa con varios sistemas de neurotransmisores, produciendo una gran variedad de efectos conductuales y fisiológicos de manera dosis-dependiente. El alcohol actúa principalmente sobre los sistemas de inhibición y excitación del sistema nervioso central, el sistema GABAérgico y glutamatérgico. En general, el efecto del etanol en estos dos sistemas consiste en aumentar la acción del GABA y antagonizar la actividad del glutamato, actuando entonces como un depresor del sistema nervioso central (Erdozain & Callado, 2014); aunque también produce efectos importantes en otros sistemas de neurotransmisores involucrados en los procesos de adaptación y desarrollo de la dependencia, como lo son el sistema dopaminérgico, serotoninérgico, y el sistema de opioides endógenos (Erdozain & Callado, 2014; Moonat *et al.*, 2010; Diamond & Gordon, 1997).

1.3.3.1 Sistema GABAérgico

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central. El alcohol actúa principalmente sobre el receptor GABA_A, el cual es un receptor ionotrópico compuesto por cinco subunidades (2 subunidades α , 2 subunidades β y una subunidad γ) que forman un canal en la membrana celular permeable al ion cloro. Varias sustancias, como el alcohol, se acoplan a diferentes partes del receptor, ya sea en la región extracelular o en el dominio que forma el canal, modulando la actividad del mismo (Grobin *et al.*, 1998).

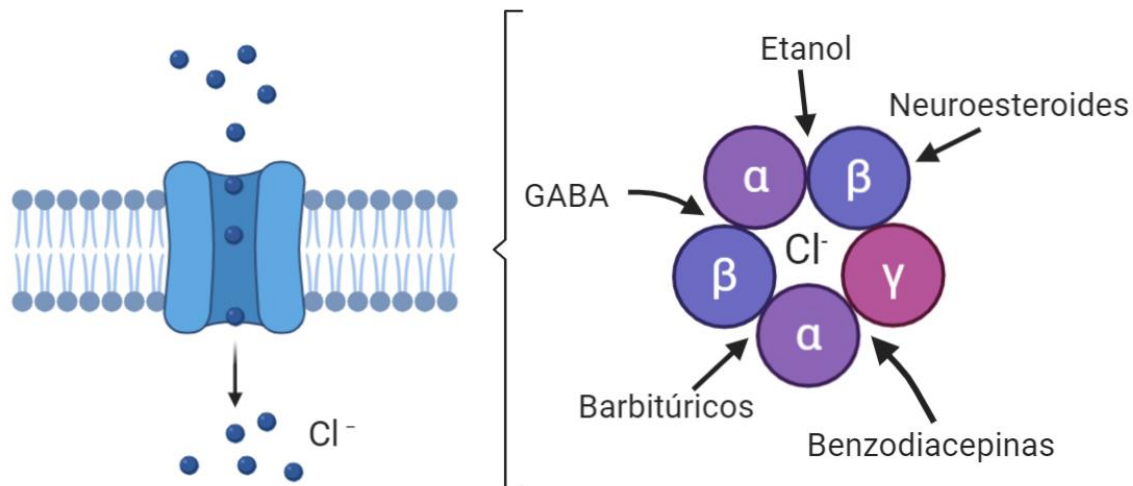


Figura 10. Receptor GABA_A. Este receptor ionotrópico es un heterodímero formado por dos subunidades α , dos β y una γ , entre las cuales se encuentran los sitios de unión a barbitúricos, benzodiazepinas, neuro esteroides y etanol. El receptor también funciona como un canal permeable al ion cloro, cuyo flujo está regulado por el GABA. Modificado de Grobin y cols. (1998).

La activación de este receptor produce la apertura del canal, permitiendo el flujo de iones de cloro al interior de la célula, lo que produce una hiperpolarización de la membrana, y como consecuencia de esto, existe un decremento en la excitabilidad de las neuronas (Kumar *et al.*, 2009). La ingesta crónica de alcohol y la repetición de varios periodos de abstinencia produce adaptaciones de las funciones del receptor GABA_A, lo que resulta en una reducción de la sensibilidad de las respuestas mediadas por este receptor, produciendo los efectos sedativos, incoordinación motora y déficits cognitivos asociados al consumo del alcohol (Erdozain & Callado, 2014). Estas adaptaciones del receptor GABA_A son importantes en el incremento de la excitabilidad característica de la abstinencia (Grobin *et al.*, 1998).

Por otro lado, el receptor GABA_B, es un receptor metabotrópico transmembranal ligado a canales de potasio y calcio a través de su acople a proteínas G, al ser activados producen una inhibición de los canales catiónicos, produciendo una hiperpolarización de la membrana y un subsecuente decremento de la excitabilidad neuronal (Erdozain & Callado, 2014). El alcohol aumenta las respuestas sinápticas del receptor GABA_B, lo que puede ser responsable de los estados mentales alterados y al entorpecimiento de la actividad motora en sujetos en la fase de intoxicación aguda (Erdozain & Callado, 2014).

1.3.3.2 Sistema glutamatérgico

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador del cerebro, y tiene un papel importante en los efectos farmacológicos del alcohol. El alcohol actúa principalmente sobre receptores ionotrópicos de glutamato, específicamente el receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), el cual está compuesto por cuatro subunidades que forman un canal catiónico (Dodd *et al.* 2000). La activación de este receptor produce un incremento en la permeabilidad para sodio, potasio y calcio, resultando en una despolarización de la membrana (Dodd *et al.* 2000). El efecto de la ingesta aguda de alcohol produce una reducción del flujo de cationes, lo cual modifica varias funciones celulares como la inhibición de la liberación de neurotransmisores (Erdozain & Callado, 2014). Además, la ingesta de alcohol afecta otros procesos como es la potenciación a largo plazo, la cual es importante para los procesos de memoria y aprendizaje (Givens & McMahon, 1995), la plasticidad sináptica, y produce excitotoxicidad por un exceso de calcio intracelular (Dodd *et al.* 2000). La ingesta crónica de alcohol produce una regulación al alza de la función del receptor NMDA, manteniendo un aumento del influjo de calcio a la célula y mientras que en la abstinencia, se produce un rebote de la actividad de este receptor, lo que está involucrado en los síntomas del síndrome de abstinencia como el delirium tremens y las crisis epilépticas (Erdozain & Callado, 2014). Sin embargo, el mecanismo exacto por el que el alcohol altera la funcionalidad de este receptor no está del todo dilucidada.

1.3.3.3 Sistema dopaminérgico

La ingesta aguda de alcohol activa el sistema límbico, conocido también como el sistema del placer y recompensa, el cual está involucrado en los efectos reforzadores tanto positivos como negativos del alcohol (Koob, 2014), y en el desarrollo de la dependencia (Moussas *et al.*, 2009). Este sistema está compuesto por neuronas dopaminérgicas en el área ventral tegmental, las cuales tienen aferencias hacia el núcleo accumbens, la amígdala y la corteza prefrontal (Adinoff, 2004). El alcohol produce una excitación dosis-dependiente de las neuronas del área ventral tegmental, y aumenta los niveles de dopamina en el núcleo accumbens, el cual está involucrado en el proceso reforzador positivo para la preferencia al consumo de alcohol (Esch & Stefano, 2004). Con una ingesta repetida de alcohol, las respuestas de neurotransmisores se reducen, y por lo tanto se necesita un incremento de la dosis de alcohol para producir el mismo efecto, lo que conlleva a la tolerancia al alcohol (Connor, Haber, & Hall, 2015).

1.3.3.4 Sistema de opioides endógenos

El efecto reforzador del alcohol está involucrado principalmente en la activación del sistema endógeno de opioides (Darcq & Kieffer, 2018). La activación de este sistema interfiere con el sistema

límbico y con un aumento de las endorfinas en el núcleo accumbens (Gianoulakis, 2009). El alcohol inhibe a los receptores δ a opiáceos, incrementando la densidad de los receptores μ y δ , y además generando un incremento en los niveles endógenos de opioides en la neurotransmisión (Manzanares *et al.*, 2018).

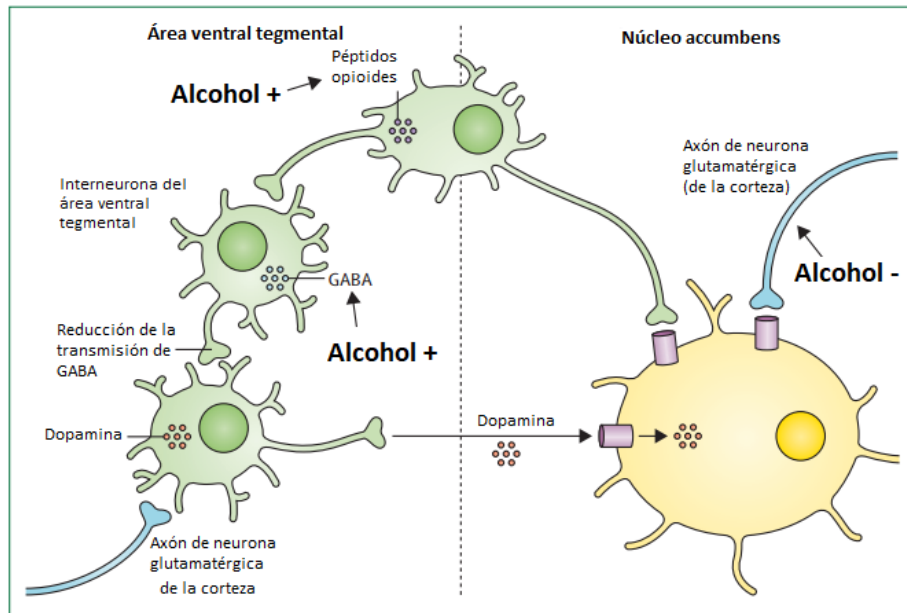


Figura 11. Efectos del alcohol en los sistemas de neurotransmisores del sistema nervioso central. El área ventral tegmental está localizada en el mesencéfalo, y se le atribuyen las funciones de placer y recompensa a través de sus proyecciones hacia el núcleo accumbens, el cual tiene un importante papel en el procesamiento cognitivo del placer, la recompensa y el aprendizaje por reforzamiento. El alcohol estimula la actividad de péptidos opiáceos endógenos y de los receptores de GABA (Alcohol +) en el área ventral tegmental; mientras que inhibe la liberación de glutamato desde las terminales nerviosas, ya que actúa en las neuronas del núcleo accumbens (Alcohol -). Estos procesos incrementan la transmisión dopaminérgica producida por la exposición repetida al alcohol, y al mismo tiempo se produce una adaptación a los efectos del alcohol. Modificado de Connor, Haber, & Hall, 2015.

1.3.3.5 Sistema serotoninérgico

La serotonina está implicada en la regulación de los estados afectivos, en la conducta de ingesta y en la adicción (Abraham *et al.*, 2017). La ingesta de alcohol incrementa el nivel extracelular de serotonina en el núcleo accumbens (Yoshimoto *et al.*, 1992), incrementando la sensibilidad de los

receptores de serotonina 5-HT₃, los cuales están implicados en el abuso de la ingesta o en el desarrollo de la dependencia al alcohol (Moussas *et al.*, 2009).

1.3.3.6 Sistema noradrenérgico

La ingesta de dosis bajas de etanol produce un aumento de la transmisión noradrenérgica, mientras que dosis altas producen una reducción de las mismas (Moussas *et al.*, 2009). Los pacientes con síndrome de abstinencia presentan niveles altos de noradrenalina en el plasma sanguíneo y en el fluido cerebroespinal debido a la sobreestimulación en neuronas noradrenérgicas, debido a que se incrementa la transmisión glutamatérgica y se pierde la autoinhibición noradrenérgica (Erdozain & Callado, 2014).

1.3.3.7 Otros sistemas

El factor liberador de CRF tiene un papel importante en el desarrollo de la adicción al alcohol y en las recaídas en el consumo, producto de la ansiedad generada por la suspensión de su consumo (Heilig & Koob, 2007). En estudios en líneas de ratas que muestran preferencia por el consumo de alcohol como las Alko Alcohol (AA), con preferencia al alcohol (P), se ha reportado que éstas tienen una mayor secreción de CRF, y que está correlacionado con rasgos de ansiedad (Richter *et al.*, 2000).

1.4 Modelos animales

Los modelos animales son utilizados para el estudio de patologías psiquiátricas y de sus potenciales tratamientos (Boulton *et al.*, 1992). Los modelos animales permiten al experimentador manipular y controlar variables como el trasfondo genético del animal, factores ambientales, sus respuestas a la exposición a estrés y la exposición a las drogas a estudiar, en este caso, el alcohol. Adicionalmente, los modelos animales permiten el análisis de los efectos de la ingesta de alcohol a nivel neuroquímico, neurofisiológico y conductual (Bell *et al.*, 2012).

Las ratas se han utilizado ampliamente como modelos animales para el estudio de los efectos del alcohol y de los sistemas cerebrales involucrados en el consumo preferente y la dependencia al alcohol (Boulton *et al.* 1992). Se ha reportado que las ratas de cepas heterogéneas autorregulan su consumo de alcohol, prefiriendo soluciones con un porcentaje de alcohol del 1-5% de manera que las concentraciones de etanol en la sangre son mínimas y no desarrollan adicción (Sandi *et al.*, 1990). Debido a esto, se han desarrollado varias manipulaciones experimentales para asegurar que las ratas consuman mayores cantidades de alcohol de manera que alcancen una concentración significativa de etanol en la sangre, y presenten signos conductuales de intoxicación como la incoordinación motora y otras alteraciones en su movimiento, además de presentar una conducta

agresiva (Boulton *et al.*, 1992). Estas manipulaciones incluyen la restricción de la disponibilidad de agua, la adición de sacarosa, inducción de polidipsia y la administración del alcohol como única fuente de hidratación (Bell *et al.*, 2012).

Existen varios protocolos de administración de alcohol en ratas que varían en el tiempo de exposición, la dosis y la vía de administración (Nagy, 2008; Boulton *et al.*, 1992; Bell *et al.* 2012). Los protocolos de exposición aguda al alcohol pueden incluir dosis bajas (>5%), moderadas (5-10%) y altas (>10%) de alcohol (Boulton *et al.*, 1992). En este tipo de protocolos la vía de administración suele ser intragástrica, en dieta líquida o en vaporizaciones durante una sola exposición (Nagy, 2008). Para modelar el patrón de consumo tipo borrachera o “*binge drinking*”, se administra una dosis alta de alcohol, usualmente por vía intragástrica o intraperitoneal, en una exposición aguda de no más de 3 días (Faingold, 2008). En un protocolo de ingesta crónica se administran dosis bajas o moderadas de alcohol, incluso, en dosis crecientes, por un periodo de 1 a 4 semanas (Nagy, 2008). En este tipo de protocolos, la administración al alcohol poder ser voluntaria, o no voluntaria. Un protocolo de ingesta no voluntaria incluye la administración de alcohol por vía intragástrica, intraperitoneal o por dieta líquida, mientras que en un protocolo de ingesta voluntaria la rata puede regular su consumo de alcohol, al tener disponible agua y alimento junto con el alcohol diluido en agua o en una dieta líquida (Bell *et al.*, 2012). Se han reportado varias modalidades de administración voluntaria de alcohol, siendo la más utilizada la libre elección entre una botella con una solución de alcohol y otra botella de agua purificada (Bell *et al.*, 2012).

Para este estudio, fue de interés un protocolo de administración voluntaria de alcohol, ya que la libre regulación de las ratas puede indicar qué características intrínsecas del animal influyen en la preferencia de la ingesta (Boulton *et al.*, 1992; Bell *et al.*, 2012), como lo son la relación entre el consumo de alcohol con la exposición al estrés (Becker *et al.*, 2011), la privación del sueño (Aalto & Kiiianmaa, 1986), o la conducta del animal derivada de un rasgo ansioso o depresivo (Langen & Fink, 2004).

La ingesta de alcohol en las ratas tiene diversos efectos sobre el sueño. En ratas, el consumo de alcohol produce los mismos efectos sobre el sueño que se han reportado en humanos (Ebrahim *et al.* 2013), por ejemplo, se produce un incremento de la latencia de sueño y una reducción significativa de la actividad delta durante el SOL (Ehlers & Slawecki, 2000), y cuando el consumo es crónico, se produce un incremento del SOL en la fase de oscuridad, que es la fase activa de las ratas; y una reducción de la duración y número de episodios de sueño SOL y MOR en la fase de luz, que

corresponde a la fase de reposo (Mukherjee *et al.*, 2008). En el consumo agudo de alcohol se produce una reducción de la latencia de sueño, un incremento de la duración del SOL y una reducción de la duración del sueño MOR en la fase de luz, pero en la fase oscuridad ocurre un aumento de SOL y del sueño MOR (Mendelson & Hill, 1978; Kubota *et al.*, 2002). Al igual que en los humanos, en las ratas, las alteraciones del sueño también dependen de la dosis de alcohol ingeridas: dosis de hasta 3 g/Kg del peso corporal de las ratas produce una inversión del sueño en las ratas, es decir, hay una mayor cantidad de SOL y sueño MOR durante su fase activa y un aumento de la vigilia en su fase de reposo (Kubota *et al.*, 2002). Adicionalmente, como parte del proceso de recuperación del organismo, también se produce el rebote del sueño MOR, acompañado de un incremento de SOL en la fase activa, que es la fase de oscuridad, lo que se asemeja a los síntomas de insomnio y somnolencia diurna que muestran los humanos (Sharma *et al.*, 2014).

1.5 Relación entre la ansiedad, las alteraciones en el sueño y el consumo de alcohol

Las alteraciones en el sueño también tienen una relación bidireccional con los trastornos afectivos como la ansiedad (Alvaro *et al.*, 2013), lo que constituye a su vez un factor detonante para el consumo de alcohol. Las alteraciones en el sueño comunes en individuos con algún trastorno de ansiedad se incluyen como un criterio diagnóstico de acuerdo al Manual Estadístico de Trastornos Mentales (American Psychiatric Association, 2013), y se considera que también son un factor que predicen la aparición y desarrollo de un trastorno de ansiedad (Cox & Olatunji, 2016). Sin embargo, aún no está claro si las alteraciones del sueño son únicamente una consecuencia del trastorno del ánimo o si la calidad del sueño determina la susceptibilidad del individuo a desarrollar un trastorno del estado del ánimo.

En individuos con algún trastorno de ansiedad las alteraciones del sueño más frecuentes son un incremento de la latencia de sueño, una reducción del tiempo total de sueño, un incremento de la etapa N2 y una reducción de la etapa N3 del SOL; así como un incremento de la frecuencia de despertares nocturnos, un aumento de la latencia a sueño MOR acompañado de una reducción del porcentaje y número de episodios de sueño MOR. Por último, una reducción de la eficiencia del sueño, la cual consiste en el tiempo total de sueño entre el tiempo en el que el sujeto permaneció acostado (Cox & Olatunji, 2016).

Recientemente se ha propuesto que el sueño, que está asociado a procesos neurofisiológicos que regulan el funcionamiento emocional, también afecta directamente al funcionamiento ejecutivo

(Harrison & Horne, 2000), lo cual incluye al control inhibitorio, la atención y la memoria. Por lo tanto, una mala calidad de sueño produce una deficiencia en la conectividad entre la amígdala y la corteza prefrontal, lo que conlleva a una respuesta alterada a estímulos negativos (Yoo *et al.*, 2007), lo que contribuye a una incapacidad para inhibir o regular procesos relacionados con la ansiedad como pensamientos y conductas impulsivas, maladaptativas y recurrentes (Segerstrom *et al.*, 2010).

Otro mecanismo propuesto para explicar la comorbilidad entre los trastornos del estado del ánimo y las alteraciones en el sueño es una desregulación de los niveles de cortisol (Cox & Olatunji, 2016). El cortisol fluctúa circádicamente, teniendo un nivel máximo de concentración en la mañana antes de despertar y en el humano hay un segundo pico alrededor de las 17:00 h, seguido de una reducción progresiva a lo largo del día y una reducción máxima durante el sueño (Omisade *et al.*, 2010). Adicionalmente, los niveles de cortisol aumentan ante la presencia de un estresor como parte de una respuesta adaptativa (Dickerson & Kemeny, 2004). Una mala calidad de sueño altera los niveles circadianos de cortisol, produciendo una respuesta aminorada de cortisol diurno y un aumento de los niveles de cortisol durante la noche (Omisade *et al.*, 2010), también produce una alteración en las respuestas ante estresores (Wright *et al.*, 2007). La desregulación de cortisol está asociada también a una alteración en el funcionamiento ejecutivo, específicamente en el control inhibitorio (Gomez *et al.*, 2009). Una respuesta deficiente ante estímulos estresores pueden resultar en una inhabilidad para estructurar una respuesta adaptativa ante dichos estímulos (McEwen & Karatsoreos, 2015), por lo tanto, puede contribuir al desarrollo de un trastorno del estado del ánimo como la ansiedad o la depresión (Cox & Olatunji, 2016).

En ratas, la corticosterona, que es la principal hormona del estrés, también influye en el ciclo sueño-vigilia. Estudios en los cuales las ratas son expuestas a estrés agudo como la restricción de movimientos, choques eléctricos inescapables, o a la prueba de miedo contextual, muestran que los niveles de corticosterona durante la exposición al estrés se incrementan (Marinesco *et al.*, 1999; Pawlyk *et al.*, 2008; Opp, 1997), lo que produce un aumento de la vigilia y una reducción del SOL y sueño MOR por al menos 3 h. Subsecuentemente, se produce un aumento progresivo del sueño superior a los niveles basales hasta 9 h después de la exposición al estrés, lo que se conoce como rebote de sueño (Suchecki *et al.*, 2012). Las ratas que son expuestas a estrés crónico presentan una reducción de la duración de SOL y sueño MOR en su fase activa, además de presentar una disminución en la latencia de sueño MOR y un aumento del número de episodios de SOL y sueño

MOR, lo que consiste en una fragmentación del sueño (Jean Kant *et al.*, 1995; Cheeta *et al.*, 1997), los cuales se mantienen durante el tiempo en que las ratas son expuestas al estrés crónico.

En cuanto a los efectos del estrés crónico y agudo sobre la conducta de ingesta de alcohol en ratas, en una revisión realizada por Becker y colaboradores (2011) muestran que la exposición al estrés crónico y agudo produce un incremento en la ingesta de alcohol durante el tiempo de exposición al estrés y puede mantenerse por algún tiempo después. En ratas seleccionadas con base en su preferencia a la ingesta de alcohol (Preferring P rats) se ha reportado una conducta basal ansiosa al ser evaluadas en pruebas estandarizadas como son el laberinto en cruz elevado, teniendo un menor número de entradas a los brazos abiertos y permaneciendo un menor tiempo en ellos (Stewart *et al.*, 1993). Sin embargo, la administración de dosis mayores a 1g/Kg de etanol por vía intraperitoneal produjo un efecto ansiolítico únicamente en estas ratas, las cuales aumentaron al 50% el número de entradas y tiempo en el que permanecían en los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado (Stewart *et al.*, 1993), lo que sugiere que estas ratas muestran una preferencia al alcohol para aminorar su ansiedad.

Por lo tanto, es evidente que existe una relación compleja entre las alteraciones en el sueño producidos por el consumo crónico y agudo de alcohol, que a su vez puede estar determinada por los trastornos del estado del ánimo como la ansiedad, lo que ayudaría a explicar la etiología de la dependencia al consumo de alcohol en sujetos con ansiedad y cómo se ve afectado el tratamiento cuando está presente una alteración del sueño.

2. Antecedentes

2.1 Ratas de alto y bajo bostezo

En el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla se obtuvieron por cruzamientos endogámicos dos sublíneas de rata de la cepa Sprague-Dawley (SD), que se diferencian por la frecuencia de bostezos espontáneos. Las ratas de la sublínea de alto bostezo (HY, del inglés *high-yawning*) presentan una frecuencia media de 20 bostezos por hora, mientras que las ratas de la sublínea de bajo bostezo (LY, del inglés *low-yawning*) solo 2 bostezos por hora. Estas ratas se obtuvieron mediante cruzamientos endogámicos a partir de ratas SD y se han criado para enfatizar dicho carácter (Urbá-Holmgren *et al.*, 1990; Collins & Eguibar, 2010).

Las ratas HY y LY se distinguen, además de la frecuencia de bostezo espontáneo, por varias conductas asociadas a la ansiedad evaluadas en pruebas estandarizadas. Por ejemplo, al evaluar la conducta de ambas sublíneas en la prueba de campo abierto, las ratas HY son menos reactivas emocionalmente, ya que presentan una mayor deambulaci3n en el campo abierto, una menor latencia de exploraci3n y una menor cantidad de bolos fecales en comparaci3n con la rata LY (Moyaho *et al.*, 1995). Al exponer a ambas sublíneas a un ambiente novedoso, las ratas HY se asean más que las ratas LY (Eguibar & Moyaho, 1997), sugiriendo una mayor adaptabilidad ante un estresor.

Recientemente, empleando el laberinto en cruz elevado hemos demostrado que las ratas LY tienen un menor número de entradas a los brazos abiertos del laberinto, y permanecen en ellos un menor tiempo con respecto de las ratas HY y las Sprague-Dawley, lo que sugiere que las ratas LY son más ansiosas (Díaz, 2019; Eguibar *et al.*, en preparaci3n). Adicionalmente, las ratas HY tienen mayor exploraci3n en el compartimento iluminado en la caja luz-oscuridad, mientras que las ratas LY permanecen mayor tiempo en el compartimento oscuro (Díaz, 2019).

Otro aspecto importante a considerar son las diferencias neuroendocrinas de las dos sublíneas. Las ratas LY presentan un mayor aumento de corticosterona en el plasma sanguíneo después de ser expuestas a un estresor en comparaci3n con las ratas HY (Cortés *et al.*, manuscrito en preparaci3n; Díaz, 2019).

2.1.1 Ciclo sueño-vigilia en las ratas HY y LY

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio, analizamos el ciclo sueño-vigilia de ratas HY y LY a lo largo de 24 h. Las ratas HY y LY presentaron una distribuci3n temporal similar de la duraci3n de las fases del sueño y de la vigilia, teniendo un predominio la vigilia durante el periodo de oscuridad y del SOL en el periodo de luz, mientras que la distribuci3n del sueño MOR se mantiene similar en ambas fases del ciclo circádico. Con respecto a la latencia a SOL y sueño MOR, las ratas LY tienen una latencia más corta en comparaci3n con las ratas HY, mientras que el número de episodios, las ratas LY tienen un mayor número de episodios de SOL en la fase de luz, su fase de reposo, con respecto a las ratas HY, mientras que el número de episodios de sueño MOR son muy similares en ambas sublíneas (Fierro Rojas, 2017; Cortés *et al.*, manuscrito en preparaci3n).

2.1.2 Ciclo sueño-vigilia después de la inducci3n de estrés agudo en las ratas HY y LY

Cuando las ratas son sometidas a un estrés agudo, presentan un rebote del sueño como respuesta adaptativa al estrés. El rebote del sueño consiste en una reducci3n inicial del sueño como

consecuencia directa de la exposición al estrés seguido de un aumento progresivo del mismo hasta alcanzar y superar los niveles basales de sueño (Rampin *et al.*, 1991).

En nuestro laboratorio se analizó el ciclo sueño vigilia de las ratas HY y LY después de ser expuestas a un estrés agudo como es la restricción de movimientos, al colocar a las ratas en un dispositivo cilíndrico de acrílico transparente que impide que la rata se mueva. La restricción de movimientos se llevó a cabo durante 1 h (0700-0800) e inmediatamente después se conectó a la rata al equipo de registro. El estrés agudo por restricción de movimientos tuvo diferentes efectos en ambas sublíneas.

En las ratas HY, se produjo un rebote de SOL durante la fase de oscuridad, que es su periodo activo, y este rebote se produjo tanto en la duración como en el número de episodios de SOL. En las ratas LY se produjo un rebote de sueño MOR, tanto en su duración como en número de episodios también durante la fase de oscuridad.

El rebote de sueño tiene una función adaptativa y de recuperación del organismo después de la exposición a estrés. Se ha propuesto que durante el sueño MOR se produce una “remodelación” afectiva de la experiencia aversiva (Walker & Helm, 2009), y por lo tanto promueve una recuperación óptima del organismo. De acuerdo con nuestros resultados, la rata LY es más susceptible al estrés agudo en la modalidad de restricción de movimientos, y debido a esto, presentó un rebote de sueño MOR más robusto. Adicionalmente, las ratas LY presentaron un mayor número de conductas abruptas durante los primeros 5 minutos de la restricción, las cuales consisten en forcejeos, rotaciones y esfuerzos por salir del restrictor.

3. Planteamiento del problema

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud Mental, el 18% de la población de 15 a 64 años de edad que habita en zonas urbanas en México presenta algún trastorno del estado del ánimo como ansiedad, depresión o fobias, además el 3.4% tiene dependencia al alcohol y el 7.6% consume alcohol de manera perjudicial (Medina-Mora *et al.*, 2003). Además, se ha reportado que los individuos que padecen un trastorno del estado del ánimo son más propensos a desarrollar una dependencia al consumo de alcohol, lo cual a menudo interfiere con el tratamiento o empeora su condición.

Los trastornos del sueño afectan a la calidad de vida y alguno de ellos se han relacionado con la aparición y desarrollo de otras patologías físicas y psiquiátricas (American Psychiatric Association, 2013). El trastorno del sueño más prevalente en México es el insomnio, presentándose hasta en un 22.1% de la población general (Guerrero-Zúñiga *et al.*, 2018). Este trastorno del sueño afecta la cantidad y calidad del sueño, generando somnolencia excesiva diurna y síntomas de malestar general, los cuales son factores que incrementan el riesgo de accidentes y de otras enfermedades mentales (Brower *et al.*, 2001).

De acuerdo con lo anterior, la prevalencia de los trastornos del estado del ánimo en comorbilidad con la dependencia al consumo de alcohol y las alteraciones del sueño produce un deterioro importante de la salud y que se refleja en diversos problemas en el ámbito del funcionamiento del sujeto.

4. Justificación

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica (ENEP, 2001) en México se estima que hasta un 28.6% de la población de entre 18 a 65 años de edad ha padecido un trastorno psiquiátrico, de los cuales los más frecuentes son los trastornos de ansiedad con un 14.3% de prevalencia, seguido por los trastornos de consumo de sustancias (9.2%) y los trastornos afectivos (9.1%). De manera relevante, tan sólo uno de cada diez individuos ha sido atendido por un especialista (Secretaría de Salud Pública, 2012; Medina-Mora *et al.*, 2003). Debe considerarse que los trastornos de ansiedad pueden llegar a ser incapacitantes para el funcionamiento en áreas sociales, laborales, académicas e interpersonales (Herring *et al.*, 2015). Si bien los trastornos y otras alteraciones del sueño son considerados como síntomas de los trastornos de ansiedad, en la práctica clínica aún se ve muy limitado un tratamiento integral efectivo para la ansiedad, y las alteraciones del sueño (Chand, 2015; Ye *et al.*, 2015).

De igual manera, en los servicios de salud pública existe una brecha de conocimiento y de implementación de tratamientos para los trastornos mentales (Medina-Mora *et al.*, 2003). Al realizar una búsqueda en los sitios electrónicos de instituciones gubernamentales de salud pública en México, se encontró una deficiencia de información, investigación y programas acerca de salud mental. Por lo que podemos suponer que los tratamientos hacia los trastornos de ansiedad y otras enfermedades psiquiátricas y psicológicas son atendidas por especialistas particulares y que el alcance de la atención y tratamiento sólo llega a un sector muy reducido de la población que cuentan

con los suficientes recursos económicos, es decir, sujetos pertenecientes a la clase media-alta y alta (Berenzon *et al.*, 2013).

Las alteraciones del sueño suponen otro problema importante de salud pública, especialmente cuando está en comorbilidad con otro trastorno psiquiátrico, ya que la incidencia y severidad de un trastorno puede exacerbar el otro (Stein *et al.*, 2008), y el tratamiento se torna más difícil y complicado. En el caso de los trastornos de ansiedad, las alteraciones en el sueño suponen un factor intensificador e incapacitante para el paciente comparado con la presencia de únicamente el trastorno de ansiedad (Ramsawh *et al.*, 2009).

Es importante conocer acerca de la relación trastornos de ansiedad y las alteraciones del sueño para diseñar nuevos tratamientos farmacológicos y psicológicos que sean efectivos para la recuperación de ambas condiciones (Ye *et al.*, 2015). Adicionalmente, no está claro si los trastornos de ansiedad son precedentes de los trastornos o alteraciones del sueño o si esta relación es contraria. Al conocer esto, podemos también diseñar programas de prevención para que al contener y tratar un trastorno se evite la aparición del otro, de manera que el proceso de recuperación sea más efectivo.

5. Pregunta de investigación

¿Cómo puede el consumo de alcohol actuar en animales con diferentes niveles de ansiedad y cómo este consumo afecta la calidad del sueño de los sujetos?

6. Objetivos

6.1 Objetivo General

Analizar el efecto del consumo de alcohol en el ciclo sueño-vigilia en las ratas HY y LY

6.2 Particulares

- Analizar el efecto del consumo crónico de alcohol en la duración y número de episodios de la vigilia, el sueño de ondas lentas y el sueño con movimientos oculares rápidos durante las fases de luz y oscuridad.
- Evaluar el efecto del consumo crónico en la latencia al sueño de ondas lentas y al sueño con movimientos oculares rápidos.
- Determinar la preferencia al consumo de alcohol en cada sublínea.
- Evaluar las conductas relacionadas a la ansiedad previas y posterior al consumo crónico de alcohol en una prueba estandarizada, como lo es la prueba de campo abierto.

7. Hipótesis

H1: Las ratas LY, como modelo de ansiedad, tendrán una mayor afectación en su ciclo sueño-vigilia después de la ingesta crónica de alcohol.

8. Metodología

8.1 Sujetos experimentales

Se utilizarán ratas HY y LY machos, 8 de cada sublínea, con un peso corporal de 300-350 g a los 3 meses de edad. Las ratas serán mantenidas en condiciones de luz-oscuridad 12:12 (encendido de las luces a las 0700), una temperatura ambiental de $21\pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa del 35-40%, cambio de viruta de madera presurizada (Aspen Chips, Estados Unidos de América) 3 veces por semana y con acceso libre a comida para roedores (Lab Diet 5012, Estados Unidos de América) y agua purificada (Ciel, Coca-Cola México). Las ratas se recibirán del bioterio y se les permitirá un periodo de adaptación en el área de experimentación de mínimo 5 días bajo las mismas condiciones ambientales.

Todos los sujetos utilizados para este proyecto fueron obtenidos del Bioterio de Investigación del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología. La pureza de las sublíneas es mantenida a través de la observación de bostezo realizada por la M. en C. Araceli Ugarte Rojano, el M.V.Z. Omar Isidro Maldonado y por la alumna Adriela Fierro Rojas a los dos meses de edad en un cristizador siguiendo lo establecido por Urbá-Holmgren y cols., (1990).

8.2 Implante crónico de electrodos

Las ratas se anestesiaron con una mezcla de ketamina (75mg/Kg) y xilacina (5mg/Kg) por vía intraperitoneal (i.p.). Se realizará una incisión con un mango de bisturí No. 4 y con hoja No. 2 en la parte superior media de la cabeza, exponiendo el cráneo quitando el periostio con una legra. Para registrar la actividad EEG se implantarán tres electrodos corticales de tornillo de acero inoxidable en la corteza frontal, parietal y occipital, además de un electrodo bipolar de platino recubierto de teflón como aislante de 0.203 mm de calibre y con sólo la punta descubierta (Plastics One Inc.) para registrar el ritmo theta en región CA1 del hipocampo con coordenadas antero-posterior -4 mm, medial-lateral -2.5 mm y dorso-ventral -2.5 mm empleando al bregma como referencia estereotáxica y siguiendo el atlas de Paxinos y Watson (2006). Para registrar la actividad EMG se utilizarán dos electrodos de alambre de nicromio insertados en los músculos de la nuca y otro colocado sobre la órbita del ojo izquierdo para el registro del EOG. Todos los electrodos se unirán a un conector y se fijarán al cráneo con acrílico dental. Las ratas tendrán un periodo de recuperación

postoperatorio de cinco días. Durante los primeros tres días se les aplicará analgésico (Flunixin 0.04mL/Kg) y antibiótico (Lincomicina 0.20mL/Kg) por vía subcutánea (s.c).

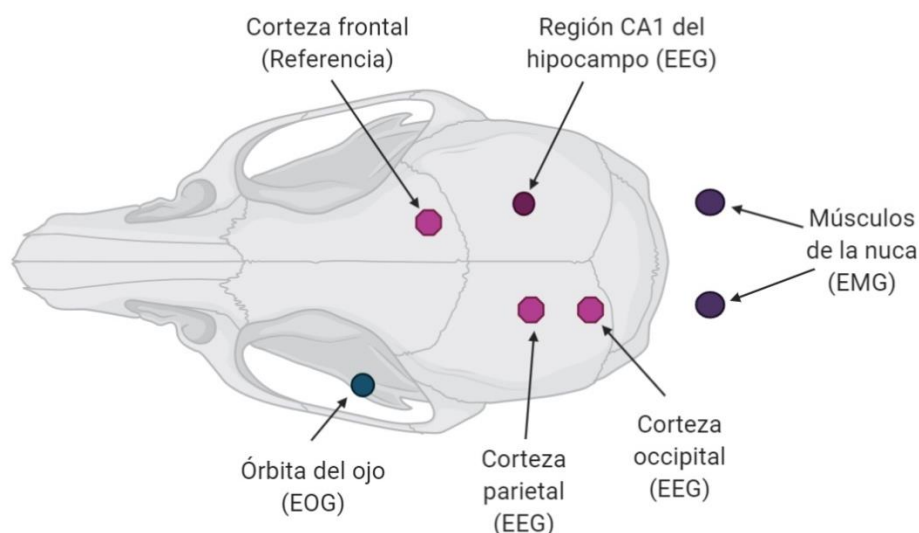


Figura 12. Localización de los electrodos para el registro de sueño.

8.3 Registro de sueño

Después del periodo de recuperación de la cirugía, las ratas se habituarán a las condiciones de experimentales durante tres horas por tres días consecutivos en los que serán conectadas a un conector movable tipo “swivel” dentro de una caja individual de acrílico transparente (medidas 45 x 30 x 60 cm) con acceso libre a comida para roedores y agua purificada. Los registros de sueño se realizarán en un cuarto sonoamortiguado con un ciclo de luz-oscuridad 12:12h (encendido de las luces a las 0700). Los registros de sueño se realizarán a través del programa NetBeacon v.1.0 (Compumedics, Reino Unido) y tendrá una duración de 24 h.



Figura 13. Rata colocada en la caja de registro. La rata se conecta al equipo de registro a través de un cable ligero conectado a un sistema giratorio tipo “swivel”, para que la rata pueda moverse libremente por la caja e incluso dormir en posición de ovillo.

8.4 Administración de alcohol

De acuerdo con el protocolo de administración de alcohol de Martínez-González *et al.*, 2002, durante 7 días se colocará una botella con solución de alcohol (10% v/v) diluido en agua purificada como única fuente de hidratación (fase AL1). Posteriormente, se colocará una segunda botella con agua simple para observar la preferencia de consumo de alcohol o agua durante un periodo de 3 semanas (fase AL2). La posición de las botellas se cambiará diariamente de manera aleatoria para descartar la posible preferencia por la posición de la botella. La cantidad ingerida se obtendrá a partir de los mL de alcohol consumidos sobre el peso corporal individual de la rata. La cantidad de alcohol o agua ingerida se medirá diariamente. Se obtendrá una curva del peso corporal de las ratas durante todo el proceso de experimentación.

8.5 Prueba conductual

Para determinar el nivel de ansiedad basal y el nivel de ansiedad posterior al periodo de exposición al alcohol de las sublíneas, las ratas serán evaluadas en la prueba de laberinto en cruz elevado (San Diego Instruments, CA, EUA), el cual consta de cuatro brazos que se cruzan en el centro, formando una cruz, dos de los cuales tienen paredes laterales con una altura de 40 cm y dos brazos sin paredes, con un área descubierta en el centro del laberinto como se muestra en la Figura 13.

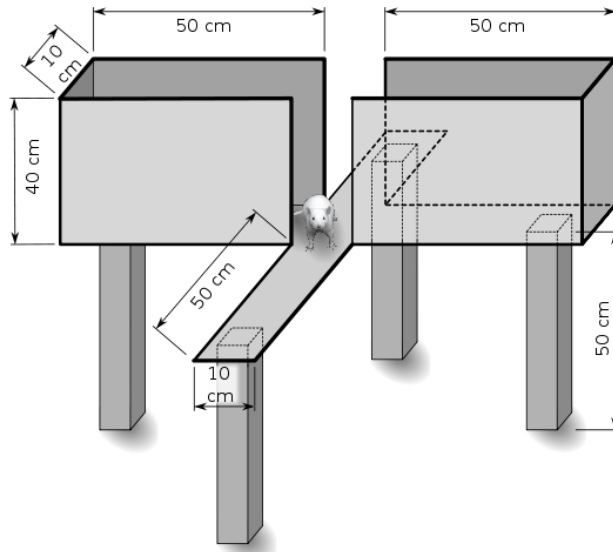


Figura 14. Diagrama del laberinto en cruz elevado. El laberinto cuenta con un área central que es el área de inicio, dos brazos cerrados, que constituyen en un área segura, y dos brazos abiertos que constituyen un área expuesta. Esta prueba se basa en las respuestas inherentes de las ratas a explorar por curiosidad los ambientes novedosos junto con la evitación que tienen hacia las áreas expuestas (Rodgers & Dalvi, 1997).

En esta prueba se medirán las siguientes variables conductuales:

- Porcentaje de entradas a los brazos abiertos y cerrados
- Porcentaje del tiempo de permanencia a los brazos abiertos y cerrados
- Conductas exploratorias: asomos o “*head dips*”, erguidos y caídas.

8.6 Diagrama de experimentos



8.7 Evaluación de los registros de sueño

El registro polisomnográfico se realizará empleando el programa ProFusion NetBeacon v.1.0 (Compumedics, Reino Unido). La señal será ampliada y filtrada (EEG: 0.5-30 Hz, EMG: 30-99Hz, EOG: 0.5-4Hz) y digitalizada con frecuencia de muestreo de 200 Hz. Simultáneamente, la conducta de la rata será grabada en video mediante una cámara Sony Handicam DCR-TRV260 (Japón).

Se calificarán las etapas de la vigilia y el sueño dividiendo el registro en épocas de 10 segundos utilizando el ProFusion PSG Sleep v.4 (Compumedics, Reino Unido), de acuerdo con los siguientes criterios:

Tabla 1. Criterios para la calificación del sueño de acuerdo a la actividad EEG

Vigilia	Sueño de ondas lentas	Sueño MOR
EEG: actividad beta de alta frecuencia (12-30 Hz) y baja amplitud.	EEG: ondas delta (0.5-4 Hz) de gran amplitud.	EEG: actividad beta rápida de baja amplitud, ritmo theta en hipocampo (4-7 Hz theta bajo y 7-12 Hz theta alto).
EMG: incremento variable del tono muscular.	EMG: disminución del tono muscular.	EMG: atonía muscular.
EOG: movimientos oculares rápidos y lentos.	EOG movimientos oculares de balanceo lento.	EOG: movimientos oculares rápidos.

Anotaciones: electroencefalográficos (EEG), electromiográficos (EMG) y electrooculográficos (EOG) para calificación de la vigilia, el sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos (MOR).

La calificación se realizará manualmente y se utilizará para obtener el hipnograma del ciclo sueño-vigilia. Las variables de sueño a analizar una vez concluida la calificación de los registros de sueño serán las siguientes:

- a) Latencia al primer episodio de SOL y sueño MOR, desde el inicio del registro hasta la primera época de SOL o sueño MOR.
- b) Duración total de la vigilia, SOL y sueño MOR durante las 24 h de registro y en las fases de luz y oscuridad.
- c) Número de episodios y su duración promedio de la vigilia, SOL y sueño MOR durante las 24 h de registro y en las fases de luz y oscuridad.
- d) Distribución temporal de la duración y número de episodios de la vigilia, SOL y sueño MOR cada 2h.

8.7 Análisis estadístico

Los resultados se presentarán como la media \pm el error estándar. Los datos serán analizados en su normalidad y en la homogeneidad de sus varianzas. Se empleará la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov con corrección Lillefors. Con base en los resultados, se emplearán análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba *post hoc* Holm-Sidak. En caso de que los datos no pasen las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizará una prueba no paramétrica. Los datos serán analizados en el programa Sigma Plot (Systat Co., San Francisco, CA, EUA), versión 11.0.

Adicionalmente, realizamos un análisis COSINOR para determinar las variaciones de la duración y número de episodios de SOL, sueño MOR y vigilia en función del tiempo circadiano. El análisis COSINOR consiste en ajustar una función de cosenos a los datos obtenidos en una serie de tiempo por medio de mínimo de cuadrados, asumiendo que la variable del tiempo es conocida.

El análisis COSINOR es útil para el estudio de ritmos biológicos tomando valores discretos de un sujeto en función de una unidad de tiempo (Cornelissen, 2014), ajustándolo a un modelo de regresión de un componente que Cornelissen describe como:

$$Y(t) = M + A \cos\left(\frac{2\pi}{\tau} t + \phi\right) + e(t)$$

en donde M es el MESOR (línea media estadística ajustada al ritmo, de sus siglas en inglés), A es la amplitud (el cambio máximo esperado en un ciclo), ϕ es la acrofase, (el tiempo transcurrido en los cambios máximos recorridos en un ciclo, τ es la duración del ciclo, por último, $e(t)$ es el error.

Cuando τ es conocido en el modelo, la ecuación puede reescribirse como:

$$Y(t) = M + \beta x + \gamma z + e(t)$$

donde:

$$\beta = A \cos \phi; \gamma = -A \sin \phi; x = \cos\left(\frac{2\pi t}{\tau}\right); z = \sin\left(\frac{2\pi t}{\tau}\right)$$

Obtuvimos el MESOR, la amplitud y la acrofase en las ratas HY y LY en condiciones basales (control) y después de la exposición a alcohol como única fuente de hidratación por 7 días (AL1) y en un paradigma de libre elección por 3 semanas (AL2) para la duración de la vigilia, SOL y sueño MOR ajustándolo al modelo COSINOR, seguido de una prueba F (R Core Team, 2019).

9. Resultados

9.1 Ingesta de Alcohol

Se comparó la ingesta de alcohol en las ratas HY y LY durante las 4 semanas de exposición al alcohol, además se evaluó el peso corporal, la ingesta de alimento, se calcularon las calorías ingeridas por el alcohol y las totales; así como la ingesta de agua, la preferencia a la ingesta de agua o de alcohol en el paradigma de libre elección de bebidas.

9.1.1 Consumo total de alcohol

Existe una diferencia significativa en el consumo total de alcohol entre las ratas HY y LY (véase Figura 14), siendo las ratas LY las que tuvieron un mayor consumo total durante las 4 semanas en las que fueron expuestas a una solución del 10% v/v de alcohol etílico que estaba disponible *ad libitum* (U de Mann-Whitney $U=3.00$, $g|=12$, $P \leq 0.005$).

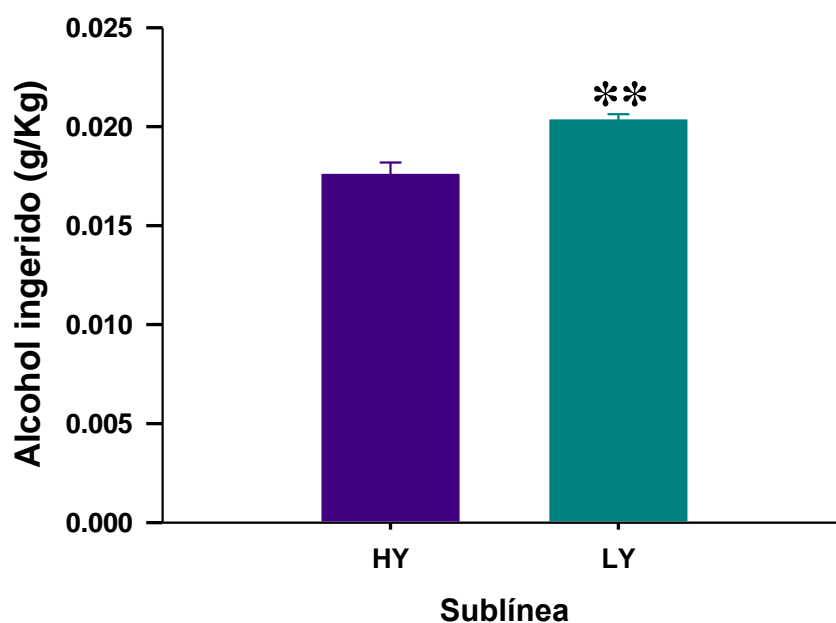


Figura 15. Ingesta total de alcohol en ratas de las sublíneas de alto (HY) y bajo bostezo (LY).
 Las ratas LY tienen una mayor ingesta de alcohol con respecto a las ratas HY (U de Mann-Whitney $U=3.00$, $gl=1$, $**P\leq 0.005$) a lo largo de las cuatro semanas de exposición.

Para comparar el consumo de alcohol entre las sublíneas a lo largo de las semanas (véase Figura 15), se utilizó una prueba ANOVA de dos factores, siendo las sublíneas o el tiempo medido en semanas los factores. Se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas ($F=23.35$, $gl=1$, $P\leq 0.001$), y en las semanas de exposición al alcohol ($F=10.27$, $gl=3$, $P\leq 0.001$), pero no una interacción alcohol X semana ($F=1.98$, $gl=3$, $P=0.13$). Mediante la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas en la semana 1 ($t=4.34$, $P\leq 0.001$) y en la semana 2 ($t=2.52$, $P\leq 0.01$). Adicionalmente, existe una diferencia significativa entre la semana 1 con respecto de la semana 2 ($t=2.64$, $P\leq 0.01$), semana 3 ($t=4.02$, $P\leq 0.001$) y la semana 4 ($t=4.95$, $P\leq 0.001$) únicamente en la sublínea de las ratas LY.

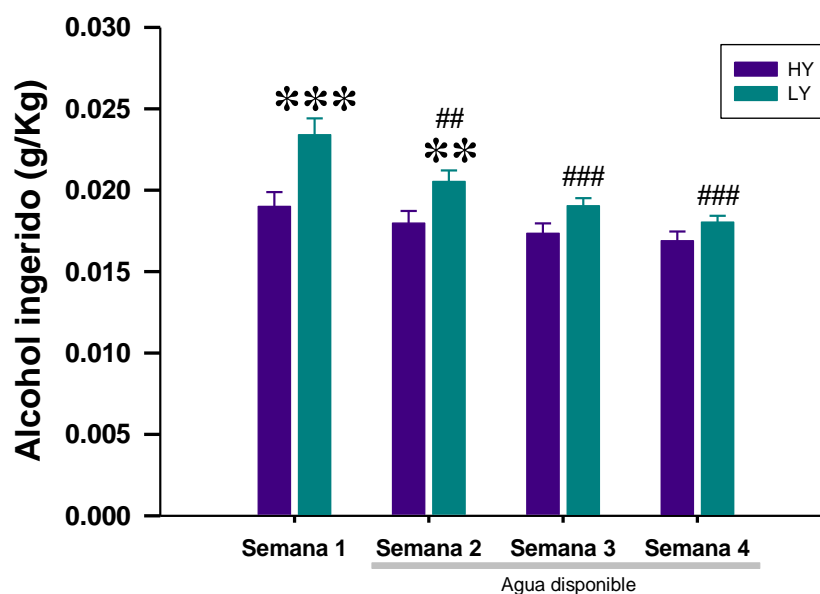


Figura 16. Ingesta total de alcohol ingerido por semana en ratas de las sublíneas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). El consumo de alcohol difirió significativamente entre las sublíneas (ANOVA $F=23.35$, $gl=1$, $P\leq 0.001$), las ratas LY tienen un mayor consumo de alcohol en la semana 1 ($t=4.34$, $***P\leq 0.001$) y en la semana 2 ($t=2.52$, $**P\leq 0.01$) con respecto de las HY. En las ratas LY, existe una diferencia significativa entre las semanas en las que ingieren alcohol ($F=10.27$, $gl=3$, $P\leq 0.001$), la ingesta de alcohol disminuye significativamente en la semana 2 ($t=2.64$, $##P\leq 0.01$), semana 3 ($t=4.02$, $###P\leq 0.001$) y en la semana 4 ($t=4.95$, $###P\leq 0.001$).

9.1.2 Preferencia de consumo de agua y alcohol

Para determinar la preferencia al alcohol entre las sublíneas durante las 3 semanas en las que fueron expuestas a la solución de alcohol y agua disponibles *ad libitum*, se realizó una prueba ANOVA de dos factores, tomando como factores a la sublínea y la cantidad de líquido ingerido (agua o alcohol).

Los análisis estadísticos mostraron una diferencia significativa en el líquido consumido ($F=1002.38$, $gl=1$, $P\leq 0.001$), entre ambas sublínea ($F=10.79$, $gl=1$, $P\leq 0.003$) y una interacción significativa entre los factores líquido X sublínea ($F=10.70$, $gl=1$, $P\leq 0.003$) en la semana 2, siendo mayor en las ratas HY el consumo de agua (Holm-Sidak $t=21.67$, $P\leq 0.001$) con respecto a las ratas LY ($t=23.11$, $P\leq 0.001$). Adicionalmente existe una diferencia significativa en el consumo de alcohol entre ambas sublíneas ($t=4.64$, $P\leq 0.001$). En la semana 3, existe una diferencia significativa en el líquido ingerido ($F=63.19$, $P\leq 0.001$), siendo significativamente mayor la ingesta de agua entre ambas sublíneas (Holm-Sidak $t=7.95$, $P\leq 0.001$). Por último, en la semana 4 existe una diferencia significativa en el líquido ingerido

($F=38.94$, $gl=1$, $P\leq 0.001$), siendo significativamente mayor la ingesta de agua en ambas sublíneas (Holm-Sidak $t=6.24$, $P\leq 0.001$).

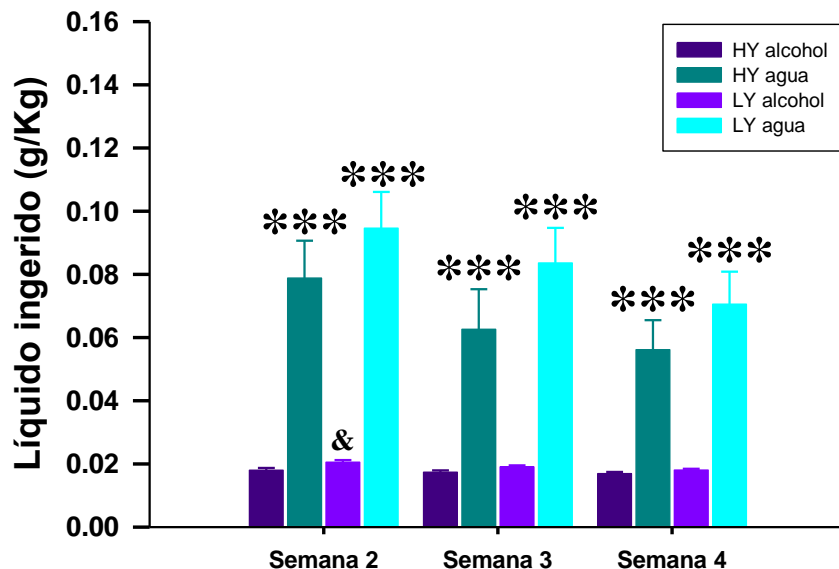


Figura 17. Preferencia para la ingesta de alcohol y agua en las sublíneas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). La cantidad de líquido consumido difiere en la semana 2 (ANOVA $F=1002.38$, $gl=1$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $***P\leq 0.001$), en la semana 3 (ANOVA $F=63.19$, $gl=1$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $***P\leq 0.001$) y en la semana 4 (ANOVA $F=38.94$, $gl=1$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $***P\leq 0.001$). Adicionalmente, hubo una diferencia significativa entre las sublíneas únicamente respecto al consumo de alcohol (ANOVA $F=10.79$, $gl=1$, $P\leq 0.003$; Holm-Sidak $\&P\leq 0.001$) en la semana 2.

Adicionalmente, se determinó el índice de preferencia a la ingesta de alcohol, el cual se calculó como la cantidad de alcohol ingerido (g) dividida entre la cantidad de líquido total ingerido (g). Las ratas LY tuvieron un mayor índice de consumo de alcohol con respecto de las ratas HY (t de Student $t=2.27$, $gl=12$, $P\leq 0.04$).

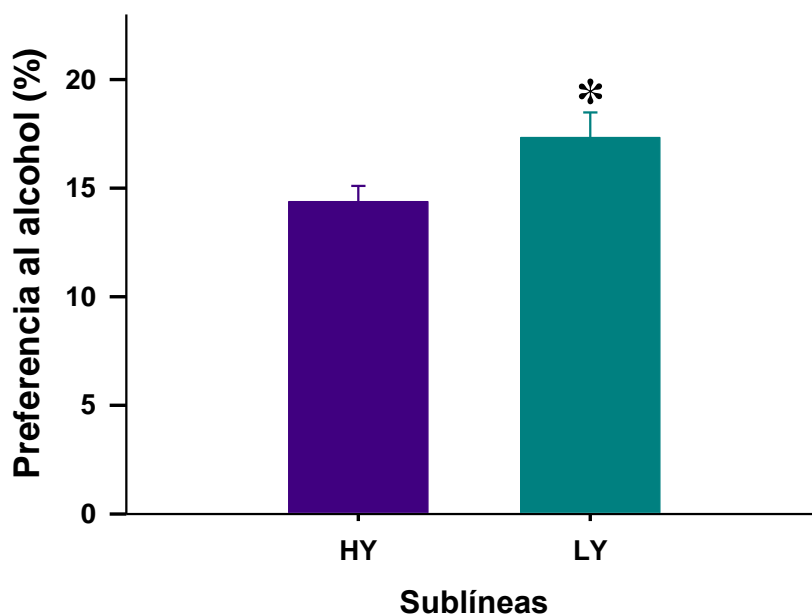


Figura 18. Preferencia a la ingesta de alcohol en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). Las ratas LY tienen una mayor preferencia por el alcohol con respecto a las ratas HY (*t* de Student $P \leq 0.04$).

9.1.3 Peso corporal

El peso corporal de las ratas de ambas sublíneas durante las 4 semanas en las que estuvieron expuestas a una solución de alcohol o de agua disponible. Se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas ($F=22.79$, $gl=1$, $P \leq 0.001$) y entre las semanas ($F=7.86$, $gl=3$, $P \leq 0.001$), pero no una interacción significativa entre los factores ($F=0.80$, $gl=3$, $P=0.49$). La prueba *post-hoc* Holm-Sidak mostró que se obtuvo un aumento de peso en ambas sublíneas en la semana 3 ($t=3.52$, $P \leq 0.001$) y en la semana 4 ($t=4.59$, $P \leq 0.001$) con respecto al peso evaluado en la semana 1.

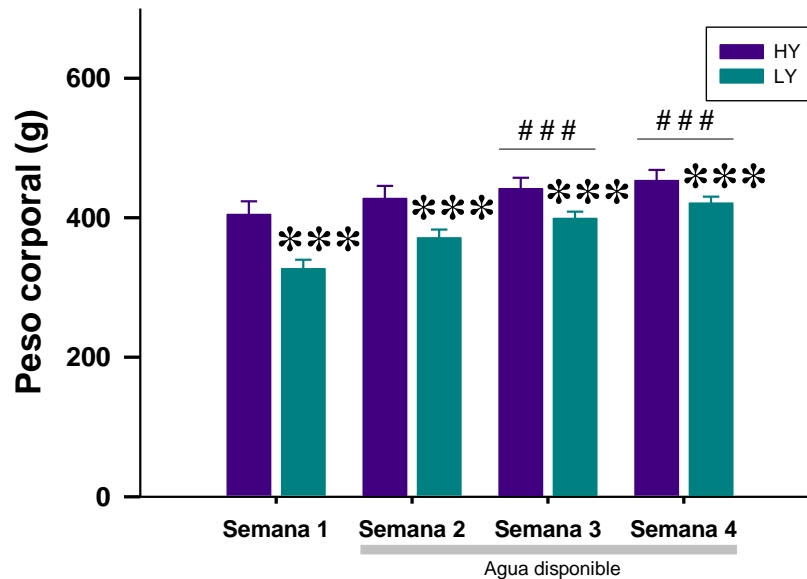


Figura 19. Peso corporal de las ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). El peso corporal difiere significativamente entre las sublíneas (ANOVA $F=22.79$, $gl=1$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $***P\leq 0.001$). Existe un aumento de peso en ambas sublíneas, siendo significativo en el tiempo de exposición en las semanas 3 y 4 bajo los efectos del alcohol (ANOVA $F=7.86$, $gl=3$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $###P\leq 0.001$).

9.1.4 Ingesta de alimento

Se determinó la cantidad de alimento (g) que consumieron las ratas de ambas sublíneas durante las 4 semanas de exposición al alcohol. Se realizó una prueba ANOVA de dos factores, tomando como factores a la sublínea y al tiempo de exposición al alcohol medido en semanas.

Se obtuvo una diferencia significativa entre las semanas de exposición al alcohol ($F=6.34$, $gl=3$, $P\leq 0.001$), siendo significativa en la semana 2 (Holm-Sidak $t=4.11$, $P\leq 0.001$) y en la semana 3 (Holm-Sidak $t=3.01$, $P\leq 0.005$) con respecto a la ingesta en la semana 1. No se obtuvieron diferencias significativas en las sublíneas ($F=0.40$, $gl=1$, $P=0.52$), ni se obtuvo una interacción sublínea X semana ($F=0.20$, $gl=3$, $P=0.89$).

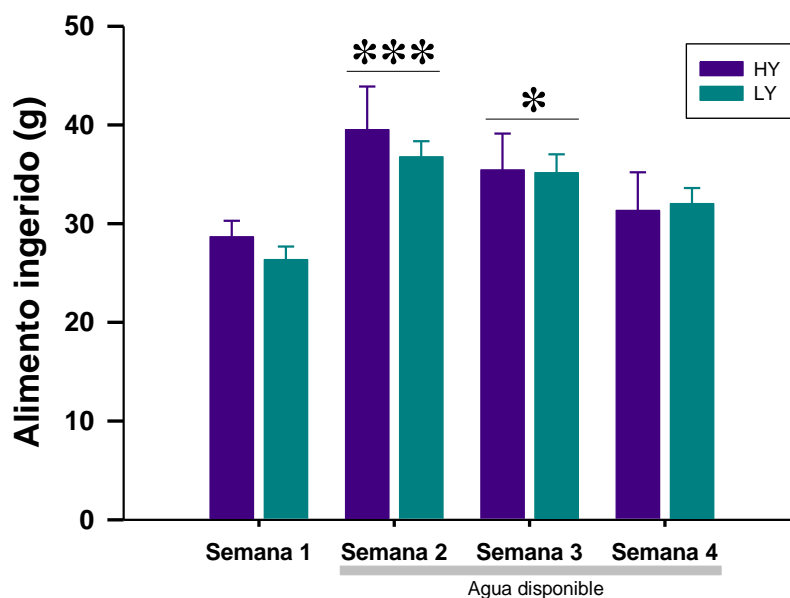


Figura 20. Ingesta de alimento durante las cuatro semanas de exposición al alcohol en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). La ingesta de alimento difiere significativamente en el tiempo de exposición al alcohol (ANOVA $F=6.34$, $gl=3$, $***P\leq 0.001$), habiendo un aumento significativo en la ingesta de alimento en la semana 2 (Holm-Sidak $***P\leq 0.001$) y en la semana 3 (Holm-Sidak $*P\leq 0.005$) con respecto a la semana 1 en ambas sublíneas.

9.1.5 Ingesta total de calorías

Se analizó el total de calorías ingeridas que provinieron del alimento, la solución de alcohol y el agua, los cuales estuvieron disponibles *ad libitum* durante las 4 semanas de experimentación. Se realizó una prueba ANOVA de dos factores, tomando como factores a la sublíneas y el tiempo expresado en semanas. Se obtuvo una diferencia significativa en las semanas ($F=4.48$, $gl=3$, $P\leq 0.009$), obteniéndose un aumento significativo en la semana 2 (Holm-Sidak $t=3.42$, $P\leq 0.002$), pero no se obtuvieron diferencias significativas entre ambas sublíneas ($F=0.90$, $gl=1$, $P=0.34$), ni una interacción entre los factores ($F=0.20$, $gl=3$, $P=0.89$).

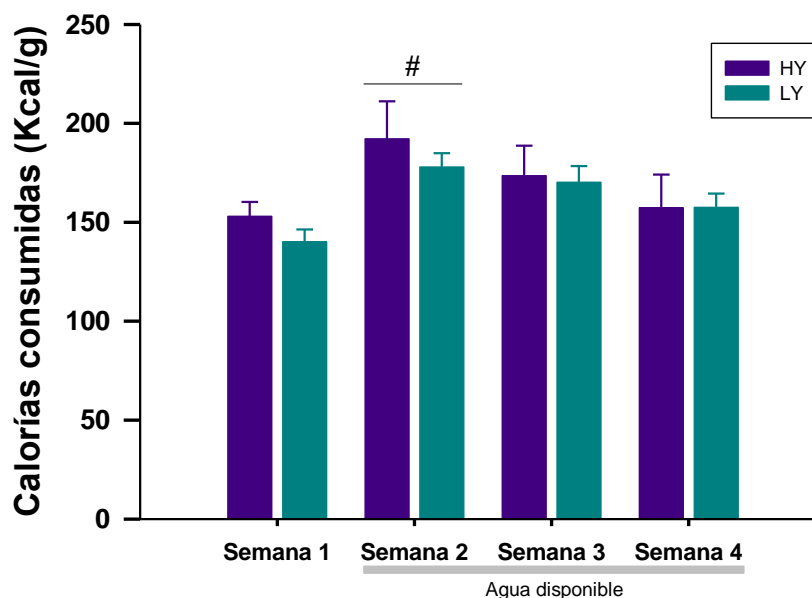


Figura 21. Calorías totales consumidas en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). Existe un aumento significativo de la cantidad de calorías ingeridas entre la semana 2 (ANOVA $F=4.48$, $gl=3$, $P\leq 0.009$; Holm-Sidak $\#P\leq 0.002$). No se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas en ninguna de las semanas evaluadas (ANOVA $F=0.90$, $gl=1$, $P=0.34$).

9.1.6 Calorías derivadas de la ingesta de alcohol

Se analizaron las calorías provenientes únicamente de la ingesta de alcohol durante las 4 semanas de experimentación en ambas sublíneas. Se realizó una prueba ANOVA de dos factores, considerando a la sublínea y al tiempo de exposición al alcohol en semanas como factores. Existe una diferencia significativa en la sublínea ($F=17.21$, $gl=1$, $P\leq 0.001$) y en el tiempo de exposición ($F=7.45$, $gl=3$, $P\leq 0.001$), pero no existe una interacción significativa entre ambos factores ($F=0.38$, $gl=3$, $P=0.76$). Las ratas LY tuvieron una menor cantidad de calorías aportadas por la ingesta de alcohol en la semana 2 (Holm-Sidak $t=2.23$, $P\leq 0.03$), en la semana 3 (Holm-Sidak $t=2.43$, $P\leq 0.01$) y en la semana 4 (Holm-Sidak $t=2.46$, $P\leq 0.01$). También se obtuvo una reducción significativa en las ratas LY en la semana 2 (Holm-Sidak $t=3.20$, $P\leq 0.002$) en la semana 3 (Holm-Sidak $t=3.27$, $P\leq 0.002$) y en la semana 4 (Holm-Sidak $t=2.17$, $P\leq 0.009$) con respecto a la semana 1.

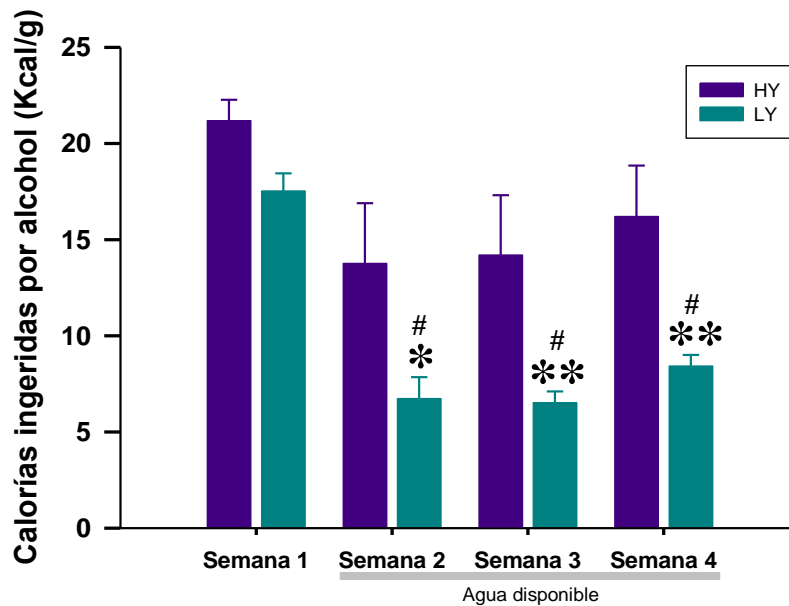


Figura 22. Calorías totales consumidas por la ingesta de alcohol en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). La cantidad de calorías ingeridas por semana difieren significativamente entre las ratas LY y HY en la semana 2 (ANOVA $F=17.21$, $gl=3$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $*P\leq 0.03$) en la semana 3 (ANOVA $F=17.21$, $gl=3$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$) y la semana 4 (ANOVA $F=17.21$, $gl=3$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$). Además, se obtuvo una diferencia significativa en las ratas LY a partir de la semana 2 (ANOVA $F=7.45$, $gl=3$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $\#P\leq 0.02$), semana 3 (ANOVA $F=7.45$, $gl=3$, $P< 0.001$; Holm-Sidak $\#P=0.002$) y en la semana 4 (ANOVA $F=7.45$, $gl=3$, $P< 0.001$; Holm-Sidak $\#P\leq 0.009$) con respecto a la semana 1.

9.2 Prueba de laberinto en cruz elevado

Para determinar las diferencias conductuales entre ambas sublíneas en condiciones control y después de la ingesta crónica de alcohol, se tomaron como criterios el tiempo de permanencia en los brazos abiertos, brazos cerrados y el centro en el laberinto en cruz elevado; además del número de entradas hacia los brazos abiertos, los cerrados y hacia el centro del laberinto. Adicionalmente, se midieron otras conductas de exploración, como los son las exploraciones verticales o erguidos, el número de veces que las ratas asomaron la cabeza por los bordes de los brazos abiertos o “*head dips*”, así como el número de las caídas del aparato.

9.2.1 Tiempo de permanencia en los brazos abiertos, cerrados y en el centro del laberinto en cruz elevado.

No se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo de permanencia en el centro entre las sublíneas (ANOVA $F=0.004$, $gl=1$, $P=0.95$), entre las condiciones (ANOVA $F=2.83$, $gl=1$, $P=0.11$), ni una interacción entre los factores (ANOVA $F=0.001$, $gl=1$, $P=0.97$). No se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto entre las sublíneas (ANOVA $F=1.89$, $gl=1$, $P=0.19$), entre las condiciones (ANOVA $F=0.07$, $gl=1$, $P=0.79$), ni una interacción entre los factores (ANOVA $F=2.76$, $gl=1$, $P=0.12$). Tampoco se obtuvieron diferencias significativas en el tiempo de permanencia en los brazos cerrados del laberinto entre las sublíneas (ANOVA $F=3.42$, $gl=1$, $P=0.09$), entre las condiciones (ANOVA $F=0.05$, $gl=1$, $P=0.82$), ni una interacción entre los factores (ANOVA $F=1.53$, $gl=1$, $P=0.24$).

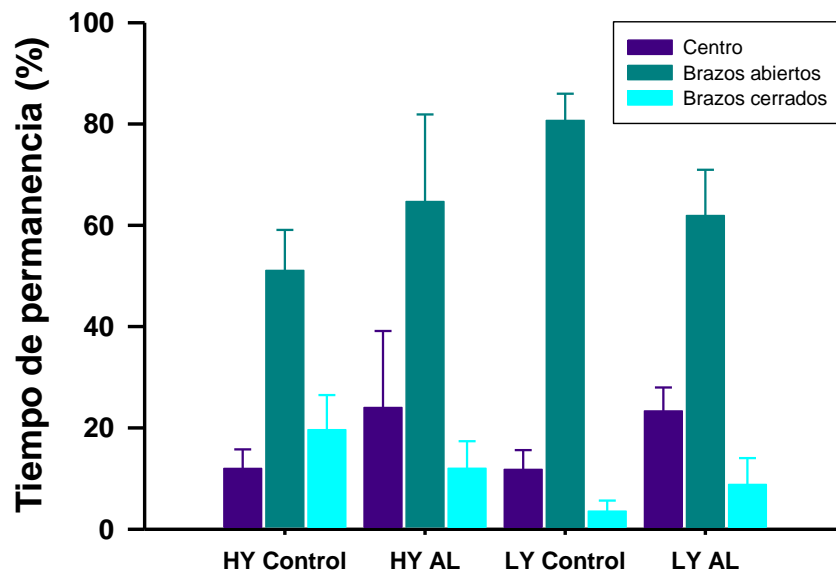


Figura 23. Porcentaje de la duración de la permanencia en brazos abiertos, cerrados o en el centro del laberinto en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY) en condiciones control y después de la ingesta de alcohol (AL). No se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas ni entre la condición control y después de la ingesta de alcohol.

9.2.2 Número de entradas a los brazos abiertos, brazos cerrados o al centro del laberinto.

Se evaluó el número de entradas a los brazos abiertos, a los brazos cerrados o en el centro del laberinto de las ratas en cada grupo. Para el número de entradas al centro del laberinto, no se

obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas (ANOVA $F=1.22$, $gl=1$, $P=0.29$), entre ambas condiciones (ANOVA $F=1.22$, $gl=1$, $P=0.29$), ni una interacción entre los factores (ANOVA $F=2.27$, $gl=1$, $P=0.16$). No se obtuvieron diferencias significativas en el número de entradas en los brazos abiertos entre las sublíneas (ANOVA $F=0.88$, $gl=1$, $P=0.36$), ni entre las condiciones (ANOVA $F=0.63$, $gl=1$, $P=0.44$), sin embargo, se obtuvo una interacción significativa entre los factores (ANOVA $F=5.05$, $gl=1$, $P=0.04$); ya que se obtuvo un un aumento en el número de entradas a los brazos abiertos en las ratas LY después de la ingesta de alcohol (Holm-Sidak $t=2.24$, $P=0.04$). Tampoco se obtuvieron diferencias significativas en el número de entradas a los brazos cerrados entre las sublíneas (ANOVA $F=1.22$, $gl=1$, $P=0.29$), entre las condiciones (ANOVA $F=0.36$, $gl=1$, $P=0.55$), ni entre los factores (ANOVA $F=0.67$, $gl=1$, $P=0.42$).

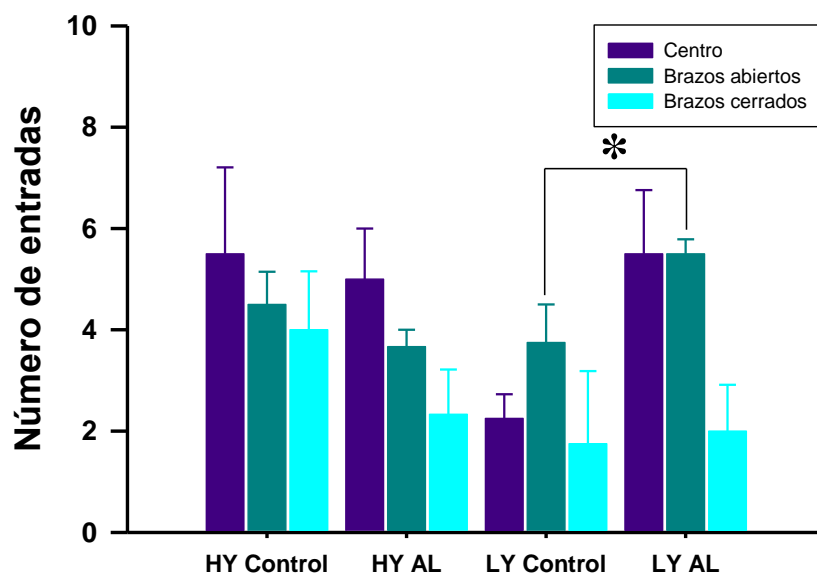


Figura 24. Número de entradas al centro, a los brazos abiertos y cerrados en el laberinto en cruz elevado en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY) en condiciones control y después de la ingesta de alcohol (AL). El número de entradas al laberinto en cruz elevado aumentó en las ratas LY después de la ingesta de alcohol (ANOVA $F=5.05$, $gl=1$, $P=0.04$, Holm-Sidak $P=0.04$).

9.2.3 Conductas exploratorias evaluadas en el laberinto en cruz elevado

Se determinó el número de los asomos de la cabeza por los bordes de los brazos abiertos en el laberinto en cruz elevado o “*head dips*”, el número de veces en que la rata se apoyaba sobre sus extremidades posteriores o erguidos y las caídas desde los brazos abiertos del laberinto. Para el

número de “*head dips*” se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas (ANOVA $F=9.93$, $gl=1$, $P=0.009$) siendo en las ratas LY las que efectuaron asomos con respecto a las HY (Holm-Sidak $t=3.36$, $P=0.006$) en los grupos con ingesta de alcohol (AL). Sin embargo, no se obtuvo una diferencia significativa entre las condiciones (ANOVA $F=0.04$, $gl=1$, $P=0.84$), ni una interacción significativa entre los factores (ANOVA $F=3.16$, $gl=1$, $P=1.0$). No se obtuvo una diferencia significativa en el número de erguidos entre las sublíneas (ANOVA $F=1.50$, $gl=1$, $P=0.24$), entre las condiciones (ANOVA $F=2.24$, $gl=1$, $P=0.16$), ni una interacción significativa sublínea X condición (ANOVA $F=1.50$, $gl=1$, $P=0.24$). Para el número de caídas, se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas (ANOVA $F=8.46$, $gl=1$, $P=0.01$) ya que se presentaron un mayor número de caídas en las ratas LY (Holm-Sidak $t=2.90$, $P=0.01$) con respecto a las HY, las cuales no presentaron ninguna caída, pero no entre las condiciones (ANOVA $F=1.35$, $gl=1$, $P=0.26$), ni se obtuvo una interacción significativa entre los factores (ANOVA $F=1.35$, $gl=1$, $P=0.26$).

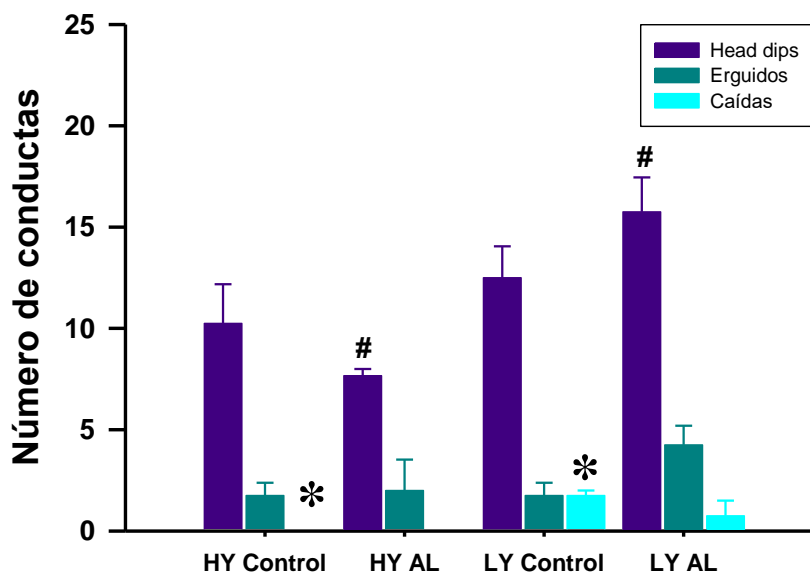


Figura 25. Número de conductas de exploración en el laberinto en cruz elevado en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY) en condiciones control y después de la ingesta de alcohol (AL). Las ratas LY presentaron un mayor número de asomos o “*head dips*” con respecto a las ratas HY en los grupos con ingesta al alcohol (ANOVA $F=9.93$, $gl=1$, $P=0.009$; Holm-Sidak $P=0.006$). Las ratas LY tuvieron mayor número de caídas con respecto a las ratas HY (ANOVA $F=8.46$, $gl=1$, $P=0.01$; Holm-Sidak $P=0.01$).

9.3 Ciclo sueño-vigilia en las ratas de alto y bajo bostezo

9.3.1 Latencias al sueño de ondas lentas y al sueño con movimientos oculares rápidos

Para el análisis de la latencia al sueño de ondas lentas y de sueño MOR, se analizó mediante una prueba ANOVA de dos factores, siendo estos la sublínea y las condiciones control, después de la exposición al alcohol como única fuente de hidratación por 7 días (fase AL1), o a la exposición al alcohol y agua en un paradigma de libre elección (fase AL2).

Para el SOL (Figura 25A), no se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas ($F=0.38$, $gl=1$, $P=0.54$), entre las condiciones ($F=0.33$, $gl=2$, $P=0.71$), ni una interacción sublínea X condición ($F=0.71$, $gl=2$, $P=0.49$). En el caso del sueño MOR (Figura 25B), tampoco se obtuvieron diferencias significativas entre ambas sublíneas ($F=2.64$, $gl=1$, $P=0.11$), entre las condiciones ($F=0.92$, $gl=2$, $P=0.40$), ni una interacción sublínea X condición ($F=0.40$, $gl=2$, $P=0.66$).

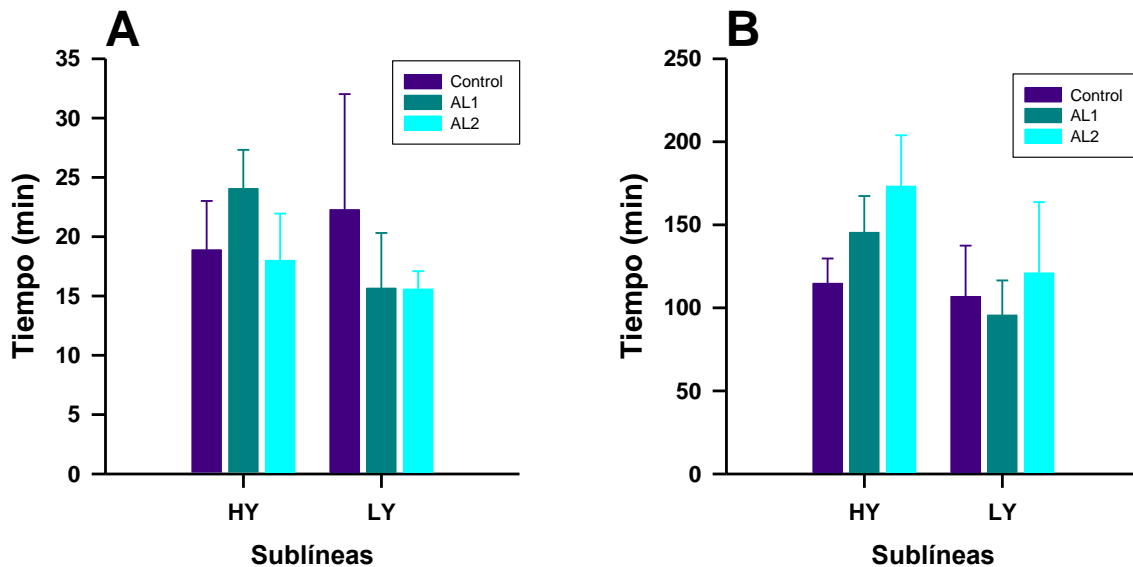


Figura 26. Latencia al sueño de ondas lentas y del sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY) en condiciones control y después de la ingesta de alcohol. A) Latencia al primer episodio de SOL. No se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas (ANOVA $F=0.38$, $gl=1$, $P=0.54$), ni entre las condiciones control y las fases AL1 y AL2 (ANOVA $F=0.33$, $gl=2$, $P=0.71$). **B)** Latencia al primer episodio de sueño MOR. Tampoco se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas (ANOVA $F=2.64$, $gl=1$, $P=0.11$), ni entre las condiciones (ANOVA $F=0.92$, $gl=2$, $P=0.40$). Las siglas AL1 corresponden al registro de sueño realizado después la primera fase de exposición al alcohol como única fuente de hidratación durante 7 días, y AL2 corresponde al registro de sueño realizado después de la fase de la evaluación de la preferencia al alcohol durante 3 semanas en un paradigma de libre elección.

9.3.2 Duración total de la vigilia, sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto y bajo bostezo en las condiciones control y después de la ingesta de alcohol

Para el análisis de la duración total de la vigilia, SOL y sueño MOR, se realizó una prueba ANOVA de dos factores, tomando como factores la sublínea y a la condición control, después de la exposición al alcohol como única fuente de hidratación por 7 días (fase AL1) y después de la exposición a alcohol y agua en un paradigma de libre elección por 3 semanas (fase AL2).

En la duración de la vigilia (véase Figura 26A), se obtuvieron diferencias significativas entre ambas sublíneas ($F=16.79$, $gl=1$, $P<0.001$), entre las condiciones ($F=6.55$, $gl=2$, $P=0.004$), con una disminución significativa de la duración de la vigilia en la fase AL1 (Holm-Sidak $t=3.14$, $P=0.003$) y en la fase AL2 (Holm-Sidak $t=3.13$, $P=0.003$) con respecto al control, pero no se obtuvo una interacción entre los factores ($F=0.17$, $gl=2$, $P=0.84$). Para el SOL (véase Figura 26B), se obtuvieron diferencias significativas entre ambas sublíneas ($P=9.92$, $gl=1$, $P=0.003$) y entre las condiciones ($P=5.26$, $gl=1$, $P<0.01$), con un aumento significativo de la duración del SOL en la fase AL1 (Holm-Sidak $t=3.01$, $P=0.005$) y en la fase AL2 (Holm-Sidak $t=2.56$, $P=0.01$), pero no se obtuvo una interacción entre los factores ($P=0.33$, $gl=1$, $P=0.72$). En la duración del sueño MOR (véase Figura 26C) sólo se obtuvo una diferencia significativa entre ambas sublíneas ($P=8.77$, $gl=1$, $P=0.005$), pero no se obtuvieron diferencias significativas entre las condiciones ($P=0.51$, $gl=2$, $P=0.61$) ni una interacción entre los factores ($P=0.64$, $gl=2$, $P=0.53$).

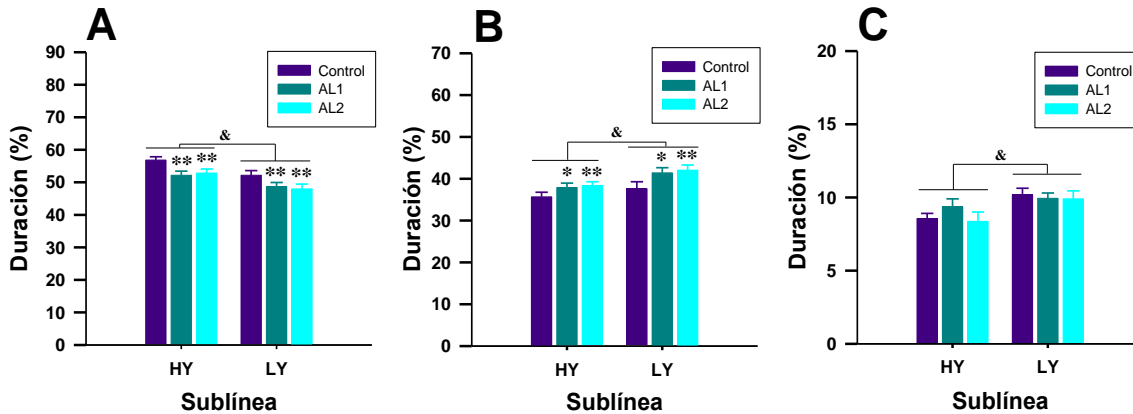


Figura 27. Duración total de la vigilia, sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY) en las condiciones control y después de la ingesta de alcohol. A) Duración total de la vigilia. Se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas (ANOVA $F=16.87$, $gl=1$, $^{\&}P<0.001$), con una disminución significativa en las fases AL1 (Holm-Sidak $t=3.14$, $^{**}P=0.003$) y AL2 (Holm-Sidak $t=3.13$, $^{**}P=0.003$). **B)** Duración total del SOL. Se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas (ANOVA $P=9.92$, $gl=1$, $^{\&}P=0.003$), con un aumento en la duración del SOL en las fases AL1 (Holm-Sidak $P=5.25$, $^{**}P<0.01$) y AL2 (Holm-Sidak $t=2.56$, $^{**}P=0.01$) con respecto al control. **C)** Duración total del sueño MOR. Se obtuvo una diferencia entre las sublíneas (ANOVA $P=8.770$, $gl=1$, $^{\&}P=0.005$).

9.3.3 Distribución temporal de la duración del sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos durante las 24 h de registro en condiciones control y después de la ingesta de alcohol

Se analizaron los porcentajes totales de la duración de la vigilia, del SOL y del sueño MOR de las ratas HY y LY distribuidas a lo largo de las 24 h del registro en condiciones control, después de la exposición al alcohol como única fuente de hidratación por 7 días (fase AL1) y después de la exposición a alcohol y agua en un paradigma de libre elección (fase AL2).

Bajo la condición control, las ratas HY tienen un porcentaje de la vigilia de 56.83 ± 2.88 , 35.67 ± 3.09 de SOL y 7.79 ± 9.47 de sueño MOR; mientras que las ratas LY tienen 52.15 ± 3.5 de vigilia, 37.60 ± 6.0 de SOL y 9.13 ± 11.11 de sueño MOR, siendo significativamente diferentes las sublíneas en el porcentaje de la vigilia (t de Student $t=2.70$, $gl=12$, $P \leq 0.01$) y en el sueño MOR (t de Student $t=61.00$, $gl=12$, $P \leq 0.04$).

En la fase AL1, las ratas HY tienen un porcentaje de la vigilia de 52.17 ± 3.60 de la vigilia, 37.92 ± 1.02 de SOL y 9.36 ± 1.53 de sueño MOR; mientras que las ratas LY tienen 48.70 ± 3.03 de vigilia, 41.42 ± 1.20 de SOL

y 9.93 ± 0.36 de sueño MOR, obteniéndose diferencias significativas entre las sublíneas únicamente en el porcentaje del SOL (t de Student $t=2.22$, $gl=12$, $P \leq 0.04$).

Por último, bajo la condición de la fase AL2, las ratas HY tienen un porcentaje de la duración total de la vigilia de 52.85 ± 3.54 , 38.26 ± 0.9 de SOL y 8.36 ± 0.63 de sueño MOR; mientras que las ratas LY tienen un porcentaje de 47.97 ± 3.66 de la vigilia, 42.05 ± 1.24 de SOL y 9.90 ± 0.54 de sueño MOR, obteniéndose diferencias significativas entre las sublíneas en el porcentaje de la vigilia (t de Student $t=2.50$, $gl=12$, $P \leq 0.02$) y del SOL (t de Student $t=2.45$, $gl=12$, $P \leq 0.03$).

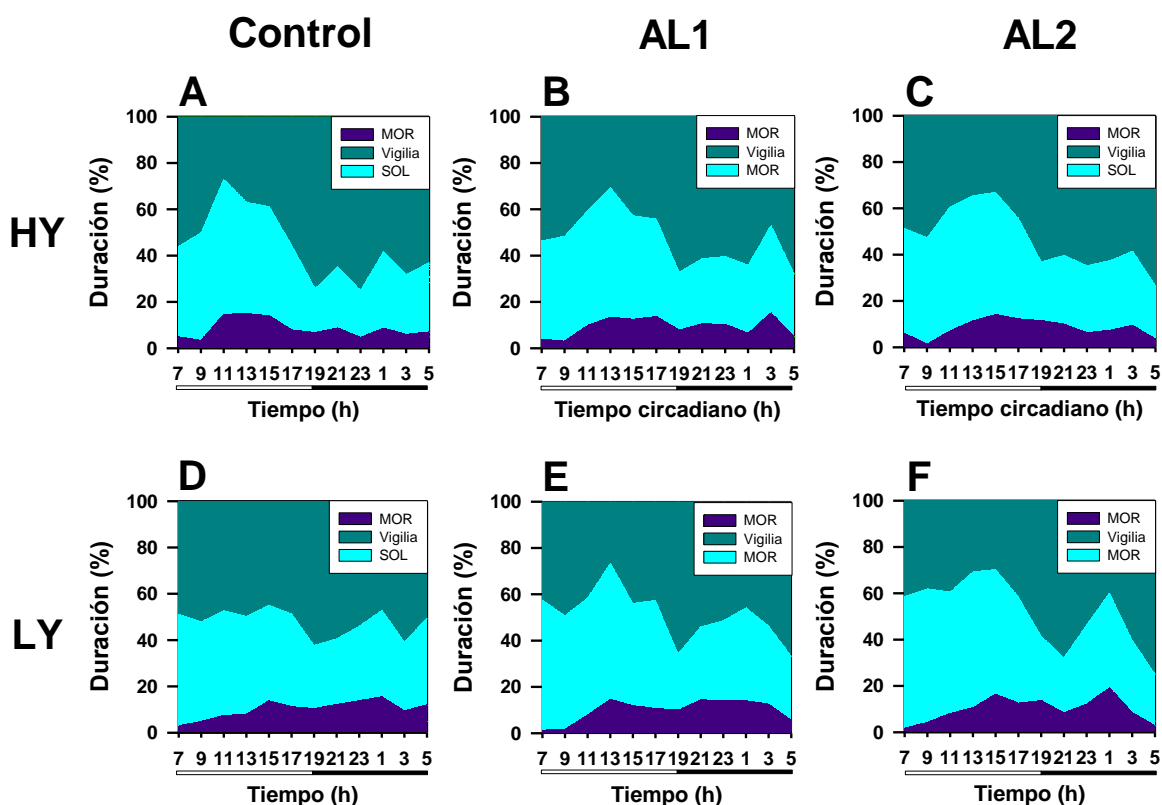


Figura 28. Distribución temporal del porcentaje de la duración total de la vigilia, sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY) en las condiciones control y después de la ingesta de alcohol. Se muestra el patrón del ciclo sueño-vigilia durante las 24 h de registro. Existen diferencias significativas entre las sublíneas en la vigilia (t de Student $P \leq 0.01$) y el sueño MOR (t de Student $P \leq 0.04$) en la condición control; en el SOL de la fase AL1 (t de Student $t=2.22$, $P \leq 0.04$) y en la vigilia (t de Student $P \leq 0.02$) y en el sueño MOR (t de Student $P \leq 0.03$) en la condición de la fase AL2. Las siglas AL1 corresponden al registro de sueño realizado después la exposición al alcohol como única fuente de hidratación durante 7 días, y AL2 corresponde al registro de sueño realizado después 3 semanas de exposición al alcohol y agua en un paradigma de libre elección.

Para un análisis más detallado de la variación entre las condiciones de las fases AL1 y AL2 con respecto al control en la distribución temporal del SOL y sueño MOR durante las 24 h de registro, se realizó una prueba ANOVA para medidas repetidas de dos factores, tomando como factores a las condiciones control, fase AL1 o AL2 y al tiempo evaluado en el número de horas de cada estado.

En las ratas HY en la fase AL1, se obtuvo una diferencia significativa para el SOL (véase Figura 28A) entre las condiciones ($F=20.32$, $gl=1$, $P\leq 0.003$) y el tiempo en cada estado ($F=12.01$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), habiendo una diferencia significativa entre las condiciones control y en la fase AL1 a las 0300 h (Holm-Sidak $t=2.48$, $P\leq 0.01$). Sin embargo, no se obtuvo una interacción significativa entre la condición X tiempo ($F=1.31$, $gl=11$, $P=0.23$). En el caso del sueño MOR de ratas HY en la fase AL1 (véase Figura 28B), se obtuvo una diferencia significativa entre las fases ($F=7.46$, $gl=1$, $P\leq 0.02$), en el tiempo ($F=7.14$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), y en la interacción significativa fase X tiempo ($F=2.73$, $gl=11$, $P\leq 0.005$). Mediante una prueba *post-hoc* de Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre la duración en la fase AL1 con respecto al control a las 1700 h ($t=2.44$, $P\leq 0.01$), a las 2300 h ($t=2.36$, $P\leq 0.02$) y a las 0300 h ($t=3.97$, $P\leq 0.001$).

En las ratas HY bajo la fase AL2 (véase Figura 28C), se obtuvo una diferencia significativa entre las condiciones control y la fase AL2 ($F=15.07$, $gl=1$, $P\leq 0.006$) y en el tiempo ($F=20.56$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no una interacción significativa condición X tiempo ($F=1.16$, $gl=11$, $P=0.32$) en la duración de SOL. En el caso del sueño MOR en ratas HY bajo la fase AL2 (Figura 28D), se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=6.45$, $gl=11$, $P\leq 0.001$) y una interacción significativa fase X tiempo ($F=2.27$, $gl=11$, $P\leq 0.01$). Sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre las condiciones ($F=0.02$, $gl=1$, $P=0.88$). Mediante una prueba *post-hoc* de Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre la duración del sueño MOR en las condiciones AL con respecto al control a las 1100 h ($t=3.15$, $P\leq 0.002$).

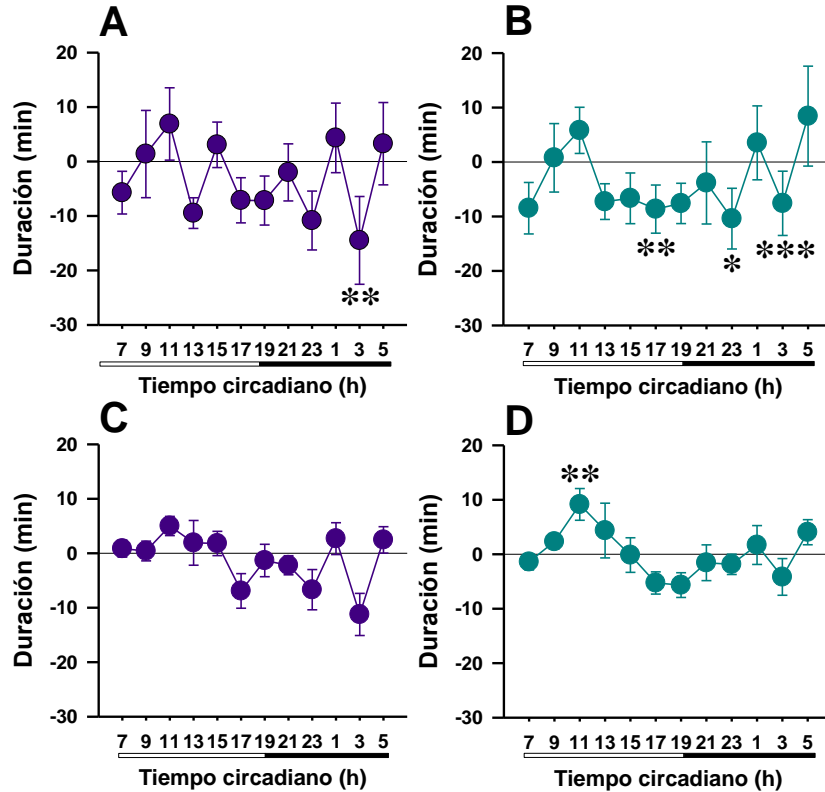


Figura 29. Distribución temporal de la duración del sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto bostezo (HY) después de la ingesta de alcohol. **A)** Duración de SOL en la condición de la fase AL1. Existe una reducción significativa a las 0300 con respecto al control (ANOVA $F=20.32$, $gl=1$, $P\leq 0.003$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$). **B)** Duración de sueño MOR en condición de la fase AL1. Existe una reducción significativa a las 1700 (ANOVA $F=2.73$, $gl=11$, $P\leq 0.005$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$), 2300 (ANOVA $F=2.73$, $gl=11$, $P\leq 0.005$; Holm-Sidak $*P\leq 0.02$) y 0300 (ANOVA $F=2.73$, $gl=11$, $P\leq 0.005$; Holm-Sidak $***P\leq 0.001$). **C)** Duración de SOL en la condición de la fase AL2. No existen diferencias significativas entre la condición AL2 con respecto al control en ningún momento. **D)** Duración de sueño MOR en la condición de la fase AL2. Existe un aumento significativo con respecto al control a las 1100 ($F=2.27$, $gl=11$, $P\leq 0.01$; Holm-Sidak $**P\leq 0.002$). La constante en cero representa a las duraciones control. Las barras blancas y negras representan las fases de luz y oscuridad. Los asteriscos señalan las diferencias significativas con respecto al control.

Para el caso de las ratas LY, se obtuvo una diferencia significativa entre las condiciones control y la fase AL1 ($F=10.75$, $gl=1$, $P\leq 0.02$), en el tiempo ($F=6.60$, $gl=11$, $P\leq 0.001$) y también una interacción condición X tiempo ($F=2.20$, $gl=11$, $P\leq 0.02$) para el SOL (Figura 29A). Al analizar los datos mediante la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre la duración de SOL a las

0700 h ($t=2.04$, $P\leq 0.04$), a las 1300 h ($t=3.92$, $P\leq 0.001$) y a las 0500 h ($t=2.31$, $P\leq 0.02$). En el caso del sueño MOR (Figura 29B) se obtuvieron diferencias significativas en el tiempo ($F=6.09$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no entre las condiciones ($F=0.09$, $gl=1$, $P=0.76$), ni interacción condición X tiempo ($F=1.79$, $gl=11$, $P=0.07$). Empleando la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa en la duración de sueño MOR con respecto al control a las 1300 h ($t=2.71$, $P\leq 0.009$) y a las 0500 h ($t=2.62$, $P\leq 0.01$).

En las ratas LY bajo la condición de la fase AL2, se obtuvo una diferencia significativa en la duración de SOL (Figura 29C) entre las condiciones ($F=7.98$, $gl=1$, $P\leq 0.03$), en el tiempo ($F=10.02$, $gl=11$, $P\leq 0.001$) y una interacción condición X tiempo ($F=2.83$, $gl=11$, $P\leq 0.005$). Empleando la prueba *post-hoc* se obtuvo una diferencia significativa en la duración del SOL en AL2 con respecto al control a las 0900 h ($t=2.81$, $P\leq 0.007$), a las 1300 h ($t=3.14$, $P\leq 0.003$), a las 15 h ($t=2.43$, $P\leq 0.01$) y a las 0500 h ($t=2.90$, $P\leq 0.005$). En el análisis del sueño MOR (Figura 29D), se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=5.71$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no se obtuvieron diferencias entre las condiciones ($F=5.71$, $gl=1$, $P=0.75$) ni una interacción condición X tiempo ($F=1.66$, $gl=11$, $P=0.10$). Empleando la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa a las 0500 h ($t=3.27$, $P\leq 0.002$).

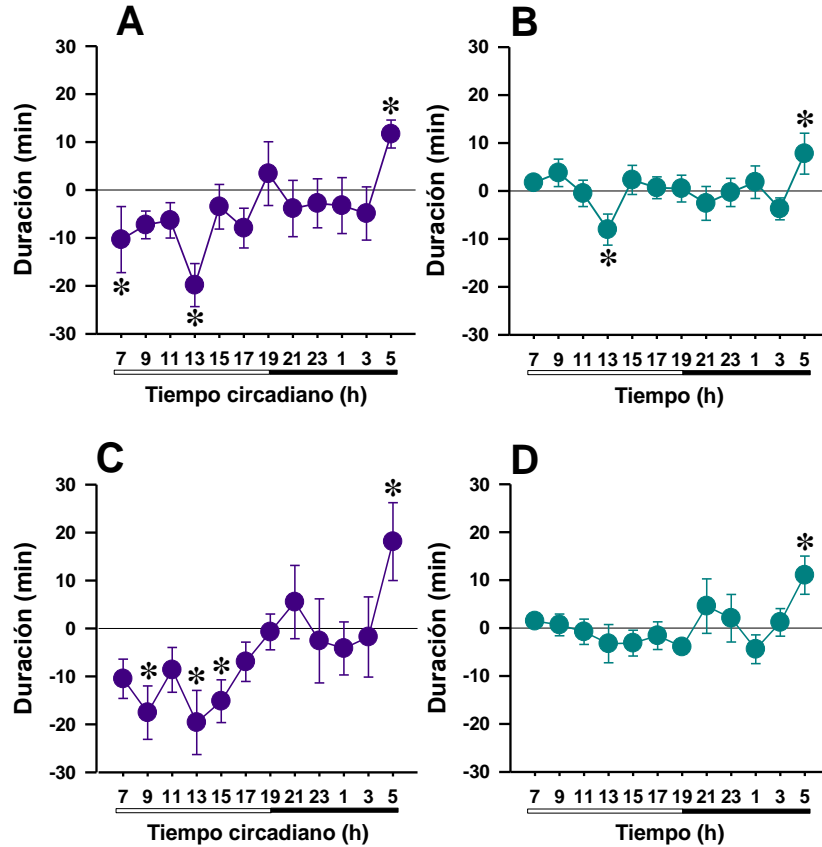


Figura 30. Distribución temporal de la duración de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de bajo bostezo (LY) después de la ingesta de alcohol.

A) Duración de SOL en la condición de la fase AL1. Existe una reducción significativa a las 0700 (ANOVA $F=2.20$, $gl=11$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak $*P\leq 0.04$) y a las 1300 (ANOVA $F=2.20$, $gl=11$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak $***P\leq 0.001$), y a las 0500 hubo un aumento significativo (ANOVA $F=2.20$, $gl=11$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak $*P\leq 0.02$) con respecto al control. **B)** Duración de sueño MOR en la condición de la fase AL1. Existe una reducción significativa con respecto al control a las 1300 (ANOVA $F=6.09$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $P\leq 0.009$) y un aumento significativo a las 0500 (ANOVA $F=6.09$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $P\leq 0.01$). **C)** Duración de SOL en la condición de la fase AL2. Existe una reducción a las 0900 (ANOVA $F=2.17$, $gl=11$, $P\leq 0.005$; Holm-Sidak $P\leq 0.007$), a las 1300 (ANOVA $F=2.17$, $gl=11$, $P\leq 0.005$; Holm-Sidak $P\leq 0.003$) y a las 1500 (ANOVA $F=2.17$, $gl=11$, $P\leq 0.005$; Holm-Sidak $P\leq 0.01$), también existe un aumento significativo a las 0500 (ANOVA $F=6.09$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $P\leq 0.005$) con respecto al control. **D)** Duración del sueño MOR en condición AL2. Existe un aumento con respecto al control a las 0500 (ANOVA $F=5.71$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $P\leq 0.002$). La constante en cero representa a las duraciones control. Las barras blancas y negras representan las fases de luz y oscuridad. Los asteriscos señalan las diferencias significativas con respecto al control.

Adicionalmente, analizamos la distribución temporal de la duración de SOL y del sueño MOR en las condiciones de las fases AL1 y AL2 con respecto a la condición control entre ambas sublíneas. Se realizó una prueba ANOVA para medidas repetidas de dos factores, tomando como factores la sublínea y el tiempo.

Para la duración de SOL en la condición de la fase AL1 (véase Figura 30A), se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas ($F=10.13$, $gl=1$, $P\leq 0.02$) y en el tiempo ($F=12.89$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no una interacción sublínea X tiempo ($F=1.33$, $gl=11$, $P=0.23$). Mediante una prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas a las 0700 h ($t=3.31$, $P\leq 0.002$) y a la 0100 h ($t=2.25$, $P\leq 0.02$). En el análisis de la duración de SOL en la condición de la fase AL2 (Figura 30B) se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=9.14$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no hubo diferencias entre las sublíneas ($F=1.54$, $gl=1$, $P=0.26$) ni una interacción sublínea X tiempo ($F=1.35$, $gl=11$, $P=0.22$). Mediante la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas a las 0900 h ($t=2.98$, $P\leq 0.01$) y a la 0100 h ($t=2.62$, $P\leq 0.01$).

En el análisis de la duración del sueño MOR en la condición de la fase AL1 (véase Figura 30C), se obtuvo una diferencia en el tiempo ($F=9.14$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no entre las sublíneas ($F=1.54$, $gl=1$, $P=0.26$) ni una interacción sublínea X tiempo ($F=1.35$, $gl=11$, $P=0.22$). Mediante la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas a la 0100 h ($t=2.62$, $P\leq 0.01$). En el análisis de la duración del sueño MOR en la condición en AL2 (véase Figura 30D) se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas ($F=9.50$, $gl=1$, $P\leq 0.02$) y en el tiempo ($F=8.64$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no una interacción sublínea X tiempo ($F=1.84$, $gl=11$, $P=0.06$). Mediante la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas a las 2300 h ($t=2.15$, $P\leq 0.03$) y a la 0100 h ($t=3.56$, $P\leq 0.001$).

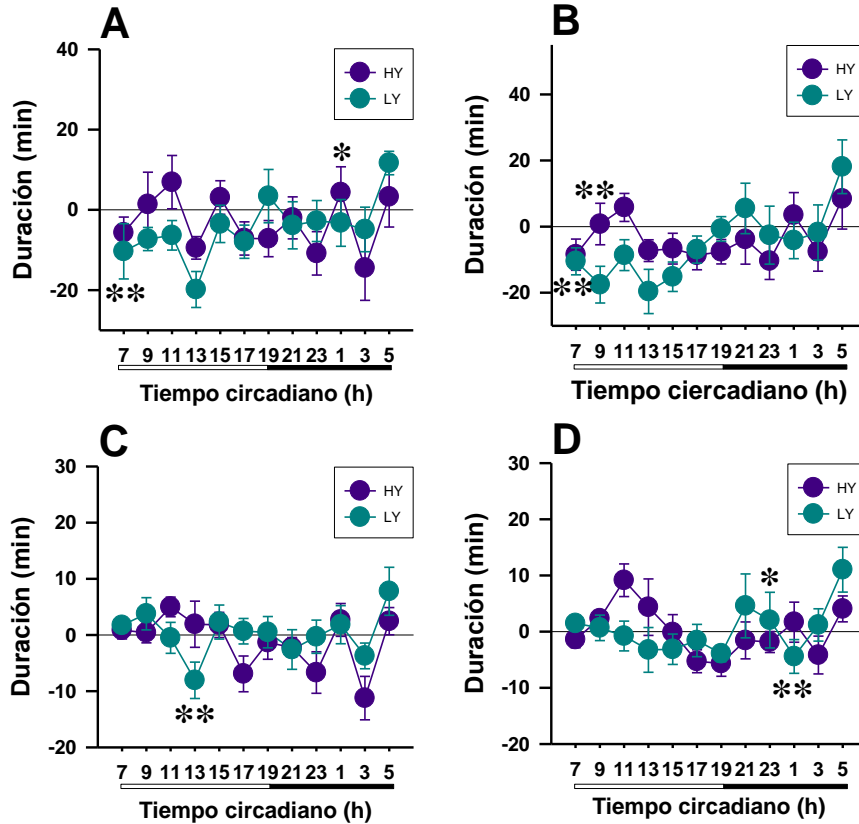


Figura 31. Distribución temporal de la duración del sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol. A) Número de episodios de SOL en la condición de la fase AL1. Existe una diferencia significativa entre las sublíneas a las 0700 (ANOVA $F=10.13$, $gl=1$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak $**P\leq 0.002$) y a las 1300 (ANOVA $F=10.13$, $gl=1$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak $*P\leq 0.02$). **B)** Duración de SOL en la condición de la fase AL2. Existe una diferencia significativa en la entre las sublíneas a las 0700 (ANOVA $F=9.14$, $gl=1$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$) y a las 0900 (ANOVA $F=9.14$, $gl=1$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$). **C)** Duración del sueño MOR en la condición de la fase AL1. Existe una diferencia entre las sublíneas a las 1300 (ANOVA $F=9.14$, $gl=1$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$). **D)** Duración de MOR en la condición de la fase AL2. Se muestra una diferencia significativa entre las sublíneas a las 2300 (ANOVA $F=9.50$, $gl=1$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak $*P\leq 0.03$) y a la 0100 (ANOVA $F=9.50$, $gl=1$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak $**P\leq 0.001$). La constante en cero representa a las duraciones control. Las barras blancas y negras representan las fases de luz y oscuridad. Los asteriscos señalan las diferencias significativas con respecto al control. Las siglas AL1 corresponden al registro de sueño realizado después la exposición al alcohol como única fuente de hidratación durante 7 días, y AL2 corresponde al registro de sueño realizado después 3 semanas de exposición al alcohol y agua en un paradigma de libre elección.

9.3.4 Número de episodios y su duración promedio de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto y bajo bostezo en las condiciones control y después de la ingesta de alcohol.

Analizamos el número de episodios de SOL y sueño MOR y su duración promedio en las fases de luz y oscuridad en las ratas HY y LY en condiciones control y después de la exposición al alcohol como única fuente de hidratación por 7 días (AL1) y después de la exposición a alcohol y agua en un paradigma de libre elección (AL2). Para este fin los datos se analizaron mediante una prueba ANOVA de dos factores, tomando como factores a la sublínea y a la condición.

En el análisis del número de episodios de SOL en la fase de luz (véase Figura 31A), se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas ($F=5.16$, $gl=1$, $P\leq 0.02$), pero no en las condiciones ($F=2.16$, $gl=2$, $P=0.12$), ni una interacción sublínea X condición ($F=0.55$, $gl=2$, $P=0.58$). Mediante la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas en la condición control ($t=2.16$, $P\leq 0.03$). En la duración promedio de SOL en la fase de luz (véase Figura 31B), existe una diferencia significativa entre las condiciones ($F=3.91$, $gl=2$, $P\leq 0.02$), pero no una diferencia significativa entre las sublíneas ($F=0.53$, $gl=2$, $P=0.47$) ni una interacción sublínea X condición ($F=1.48$, $gl=2$, $P=0.24$). Empleando la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvieron diferencias significativas en las ratas LY entre las condiciones AL1 ($t=2.72$, $P\leq 0.01$) y AL2 ($t=2.4$, $P\leq 0.02$) con respecto a su respectivo control.

En la fase de oscuridad, el número de episodios de SOL (véase Figura 31C) no se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas ($F=0.07$, $gl=1$, $P=0.79$), entre las condiciones ($F=0.15$, $gl=2$, $P=0.85$) ni una interacción sublínea X condición ($F=2.26$, $gl=2$, $P=0.11$). En la duración promedio de SOL (véase Figura 31D), se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas ($F=11.05$, $gl=1$, $P\leq 0.002$), pero no entre las condiciones ($F=0.53$, $gl=2$, $P=0.59$), ni una interacción sublínea X condición ($F=0.65$, $gl=2$, $P=0.52$). Mediante la prueba *post-hoc* Holm-Sidak se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas en la condición AL2 ($t=2.79$, $P\leq 0.01$).

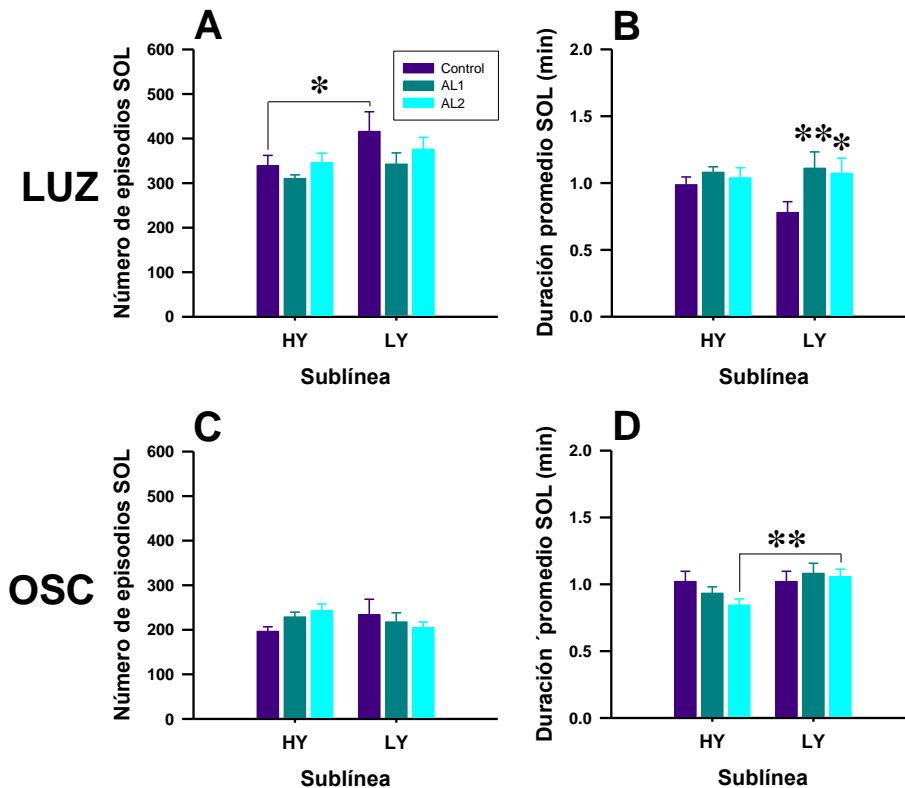


Figura 32. Número de episodios de sueño de ondas lentas y su duración promedio en las fases de luz y oscuridad en las condiciones control y después de la ingesta de alcohol en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). A) Número de episodios de SOL en la fase de luz. Existe una diferencia significativa en la condición control entre las sublíneas (ANOVA $F=5.16$, $gl=1$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak $*P\leq 0.03$). **B)** Duración promedio de los episodios de SOL en la fase de luz. Existen diferencias significativas en las ratas LY en las condiciones AL1 (ANOVA $F=3.91$, $gl=2$, $P\leq 0.02$; Holm-Sidak, $**P\leq 0.01$) y AL2 (ANOVA $F=3.91$, $gl=2$, $P\leq 0.02$ Holm-Sidak $*P\leq 0.02$) con respecto al control. **C)** Número de episodios de SOL en la fase de oscuridad. No hay diferencias entre las sublíneas ni entre las condiciones. **D)** Duración promedio de los episodios de SOL en la fase de oscuridad. Existe una diferencia significativa entre las sublíneas en la condición AL2 (ANOVA $F=11.05$, $gl=1$, $P\leq 0.002$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$). Las siglas AL1 corresponden al registro de sueño realizado después la exposición al alcohol como única fuente de hidratación durante 7 días, y AL2 corresponde al registro de sueño realizado después 3 semanas de exposición al alcohol y agua en un paradigma de libre elección.

Para el número de episodios de sueño MOR (Figura 32A) en el periodo de oscuridad no se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas ($F=1.02$, $gl=1$, $P=0.31$), entre las condiciones ($F=0.18$, $gl=2$, $P=0.83$) ni una interacción sublínea X condición ($F=1.22$, $gl=2$, $P=0.30$). En la duración promedio

del sueño MOR (Figura 32B) tampoco se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas ($F=0.01$, $gl=1$, $P=0.90$), las condiciones ($F=1.06$, $gl=2$, $P=0.35$), ni una interacción sublínea X condición ($F=0.22$, $gl=2$, $P=0.80$).

En la fase de oscuridad, el número de episodios de sueño MOR (véase Figura 32C) no se obtuvieron diferencias significativas entre las sublíneas ($F=0.002$, $gl=1$, $P=0.96$), entre las condiciones ($F=0.76$, $gl=2$, $P=0.47$) ni una interacción sublínea X condición ($F=0.45$, $gl=2$, $P=0.63$). En el caso de la duración promedio de MOR (véase Figura 32D) hubo una diferencia significativa entre las sublíneas ($F=67.42$, $gl=1$, $P\leq 0.001$), pero no hubo diferencias significativas entre las condiciones ($F=0.39$, $gl=2$, $P=0.67$) ni una interacción sublínea X condición ($F=0.77$, $gl=2$, $P=0.46$). La prueba *post-hoc* Holm-Sidak mostró que las diferencias significativas entre las sublíneas se obtuvieron en las condiciones control ($t=5.71$, $P\leq 0.001$), AL1 ($t=4.01$, $P\leq 0.001$) y en la fase AL2 ($t=4.48$, $P\leq 0.001$).

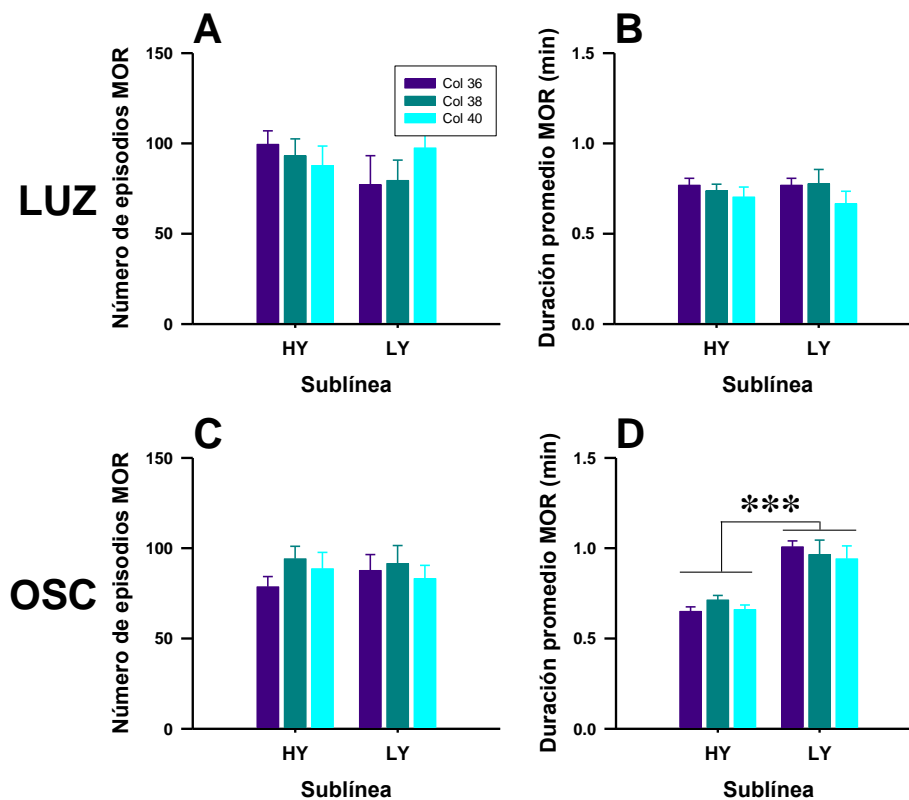


Figura 33. Número de episodios y su duración promedio de sueño con movimientos oculares rápidos en las fases de luz y oscuridad en las condiciones control y después de la ingesta de alcohol en ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY). A) Número de episodios de sueño MOR en la fase de luz. No hay diferencias significativas entre las sublíneas en ninguna de las condiciones. **B)** Duración promedio de los episodios de sueño MOR en la fase de luz. No existen diferencias

significativas entre las sublíneas en ningunas de las condiciones. **C)** Número de episodios de sueño MOR en la fase de oscuridad. No existen diferencias significativas entre las sublíneas en ningunas de las condiciones. **D)** Duración promedio de los episodios de sueño MOR en la fase de oscuridad. Existen diferencias significativas entre las sublíneas en las condiciones control (ANOVA $F=67.42$, $gl=1$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $***P\leq 0.001$), en la fase AL1 (ANOVA $F=67.42$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $***P\leq 0.001$) y en la fase AL2 (ANOVA $F=67.42$, $gl=1$, $P\leq 0.001$ Holm-Sidak, $***P\leq 0.001$). Las siglas AL1 corresponden al registro de sueño realizado después la exposición al alcohol como única fuente de hidratación durante 7 días, y AL2 corresponde al registro de sueño realizado después 3 semanas de exposición al alcohol y agua en un paradigma de libre elección.

9.3.5 Distribución temporal del número de episodios de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto y bajo bostezo después de la ingesta de alcohol

Para el análisis de la distribución temporal del número de episodios de SOL y de sueño MOR durante las 24 h de registro, se realizó una prueba ANOVA para medidas repetidas de dos factores, tomando como factores a las condiciones control, la exposición al alcohol como única fuente de hidratación en la fase AL1 o después de la exposición a alcohol y agua en un paradigma de libre elección en la fase AL2 y como factor de medidas repetidas al tiempo expresado en horas (h).

9.3.5.1 Distribución temporal del sueño de ondas lentas y el sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto bostezo

En el número de episodios de SOL en la condición de la fase AL1 (véase Figura 33A) se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=10.39$, $gl=11$, $P\leq 0.001$) y una interacción significativa condición X tiempo ($F=2.0$, $gl=11$, $P\leq 0.04$), pero no una diferencia entre ambas sublíneas ($F=0.67$, $gl=1$, $P=0.43$). La prueba *post-hoc* Holm-Sidak mostró que las diferencias significativas se obtuvieron a las 1100 h ($t=2.19$, $P\leq 0.03$), a las 2300 h ($t=2.97$, $P\leq 0.004$) y a las 0300 h ($t=2.61$, $P\leq 0.01$) con respecto al grupo control. En cuanto al número de episodios de sueño MOR en la condición de la fase AL1 (véase Figura 33B) hubo una diferencia significativa en el tiempo ($F=5.99$, $gl=11$, $P\leq 0.001$) pero no entre las condiciones ($F=1.49$, $gl=2$, $P=0.26$) ni una interacción condición X tiempo ($F=1.65$, $gl=11$, $P=0.10$). La prueba *post-hoc* Holm-Sidak mostró diferencias significativas a las 2300 h ($t=2.03$, $P\leq 0.04$) y a las 0300 h ($t=3.02$, $P\leq 0.003$).

En el número de episodios de SOL en la condición de la fase AL2 (véase Figura 33C) se obtuvieron diferencias significativas entre las condiciones ($F=10.31$, $gl=1$, $P\leq 0.01$), y en el tiempo ($F=10.28$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no hubo una interacción significativa condición X tiempo ($F=1.77$, $gl=11$,

P=0.07). La prueba *post-hoc* Holm-Sidak mostró que las diferencias significativas se obtuvieron a las 2300 h ($t=3.16$, $P\leq 0.002$) y a las 0300 h ($t=2.25$, $P\leq 0.02$). Para el caso del número de episodios de sueño MOR en la condición AL2 (véase Figura 33D), se obtuvieron diferencias significativas en el tiempo ($F=5.68$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), y una interacción significativa condición X tiempo ($F=2.3$, $gl=11$, $P\leq 0.01$), pero no hubo diferencias entre las condiciones ($F=0.002$, $gl=1$, $P=0.98$). La prueba *post-hoc* Holm-Sidak mostró una diferencia significativa a las 1100 h ($t=2.96$, $P\leq 0.05$).

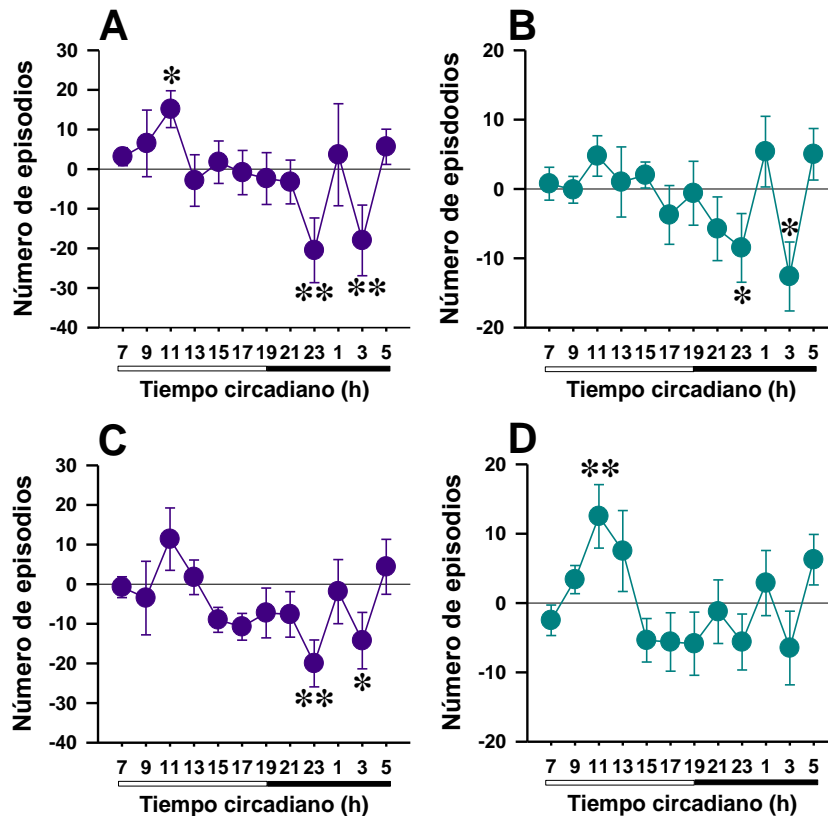


Figura 34. Número de episodios de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol en ratas de alto bostezo (HY). A) Número de episodios de SOL en la condición de la fase AL1. Existe un aumento significativo a las 1100 (ANOVA $F=2.0$, $gl=11$, $P\leq 0.04$; Holm-Sidak $*P\leq 0.03$) y una reducción significativa a las 2300 (ANOVA $F=2.0$, $gl=11$, $P\leq 0.04$; Holm-Sidak $**P\leq 0.004$) y a las 0300 (ANOVA $F=2.0$, $gl=11$, $P\leq 0.04$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$) con respecto al control. **B)** Número de episodios de sueño MOR en la condición de la fase AL1. Existe una reducción significativa a las 2300 (ANOVA $F=5.99$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $*P\leq 0.04$) y a las 0300 (ANOVA $F=5.99$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $**P\leq 0.003$) con respecto al control. **C)** Número de episodios de SOL en la condición de la fase AL2. Existe una reducción significativa a las 2300 (ANOVA $F=10.31$, $gl=1$, $P\leq 0.01$; Holm-Sidak $**P\leq 0.002$) y a las 0300 (ANOVA $F=10.31$, $gl=1$, $P\leq 0.01$; Holm-Sidak $*P\leq 0.02$) con respecto al

control. **D)** Número de episodios de sueño MOR en condición AL2. Existe un aumento significativo a las 1100 (ANOVA $F=5.68$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $*P\leq 0.05$) con respecto al control. La constante en cero representa a las duraciones control. Las barras blancas y negras representan las fases de luz y oscuridad. Los asteriscos señalan las diferencias significativas con respecto al control.

9.3.5.2 Distribución temporal del número de episodios del sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de bajo bostezo

En cuanto al número de episodios de SOL en la condición de la fase AL1 (véase Figura 34A) se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=9.45$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no hay diferencias entre las condiciones ($F=2.18$, $gl=1$, $P=0.20$), ni una interacción condición X tiempo ($F=1.01$, $gl=11$, $P=0.44$). Para el número de episodios de MOR en la condición de la fase AL1 (véase Figura 34B) se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=3.07$, $gl=11$, $P\leq 0.003$), pero no entre las condiciones ($F=0.15$, $gl=1$, $P=0.71$) ni una interacción condición X tiempo ($F=1.64$, $gl=11$, $P=0.11$). Se obtuvo una diferencia significativa en el número de episodios de sueño MOR con respecto al control a las 0300 h (Holm-Sidak $t=2.06$, $P\leq 0.04$).

En el caso del número de episodios de SOL en la condición de la fase AL2 (véase Figura 34C) se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=19.38$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no hubo diferencias significativas entre las condiciones ($F=0.72$, $gl=1$, $P=0.43$), ni una interacción condición X tiempo ($F=1.65$, $gl=11$, $P=0.10$). Se obtuvo una diferencia significativa en el número de episodios con respecto al control a las 0500 h (Holm-Sidak $t=2.51$, $P\leq 0.01$). Para el número de episodios de sueño MOR en la condición de la fase AL2 (véase Figura 34D) se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=6.84$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no entre las condiciones ($F=1.175$, $gl=1$, $P=0.32$), ni una interacción condición X tiempo ($F=1.75$, $gl=11$, $P=0.08$). Se obtuvieron diferencias significativas en el número de episodios con respecto al control a las 1500 h ($t=2.83$, $P\leq 0.006$) y a las 0500 h ($t=2.28$, $P\leq 0.02$).

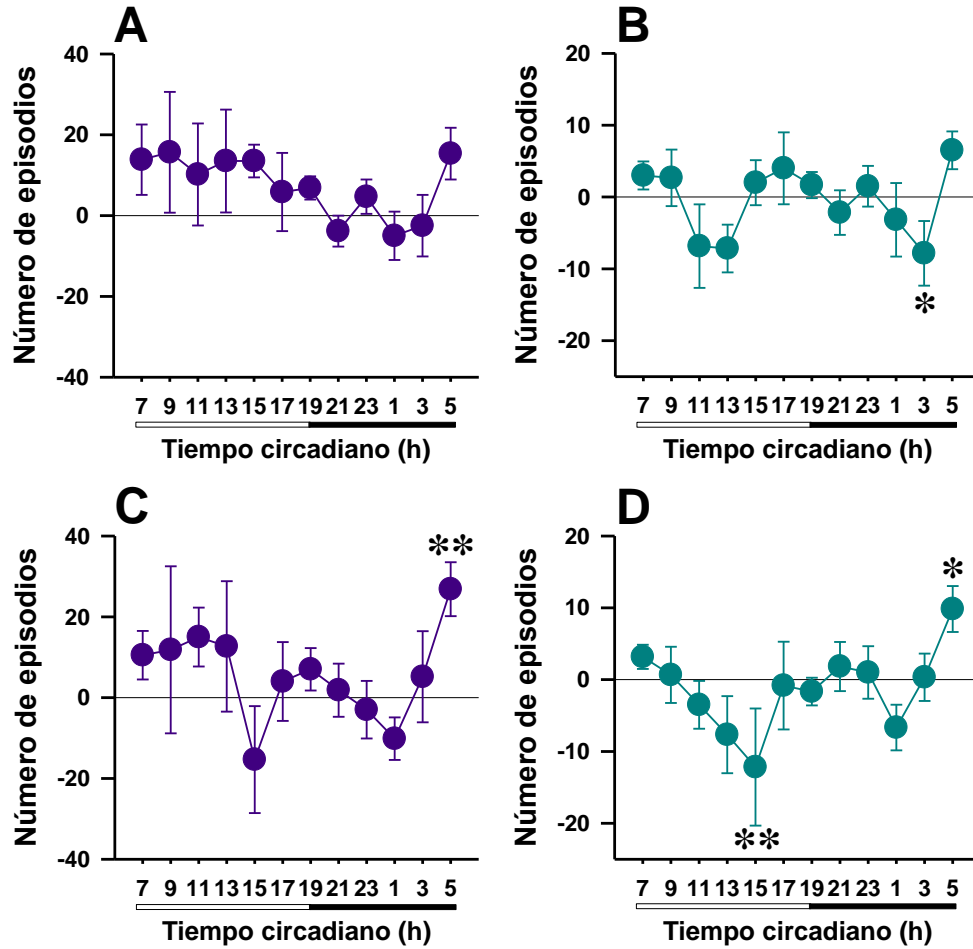


Figura 35. Número de episodios de sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol en ratas de bajo bostezo (LY). A) Número de episodios de SOL en la condición de la fase AL1. No hay diferencias significativas en el número de episodios con respecto al control. **B)** Número de episodios de sueño MOR en la condición de la fase AL1. Existe una reducción significativa con respecto al control a las 0300 (ANOVA $F=3.07$, $gl=11$, $P\leq 0.003$; Holm-Sidak $*P\leq 0.04$). **C)** Número de episodios de SOL en la condición de la fase AL2. Existe un aumento significativo con respecto al control a las 0500 (ANOVA $F=19.38$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $**P\leq 0.01$). **D)** Número de episodios de sueño MOR en la condición de la fase AL2. Existe una reducción significativa con respecto al control a las 1500 (ANOVA $F=6.84$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $**P\leq 0.006$) y un aumento a las 0500 (ANOVA $F=6.84$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $*P\leq 0.02$). Las siglas AL1 corresponden al registro de sueño realizado después la exposición al alcohol como única fuente de hidratación durante 7 días, y AL2 corresponde al registro de sueño realizado después 3 semanas de exposición al alcohol y agua en un paradigma de libre elección.

9.3.5.3. Distribución temporal del número de episodios del sueño de ondas lentas y sueño con movimientos oculares rápidos en las ratas de alto y bajo bostezo

Para comparar la distribución temporal del número de episodios de SOL y sueño MOR en las condiciones de las fases AL1 y AL2 entre las sublíneas, se realizó una prueba ANOVA para medidas repetidas de dos factores, tomando como factor a las sublíneas y al tiempo expresado en horas (h) de registro.

Para el número de episodios de SOL en la condición de la fase AL1 (véase Figura 35A) se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=9.65$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no entre las sublíneas ($F=0.07$, $gl=1$, $P=0.79$) ni una interacción sublínea X tiempo ($F=1.77$, $gl=11$, $P=0.08$). Se obtuvo una diferencia significativa entre las sublíneas a las 1100 h (Holm-Sidak $t=1.52$, $P\leq 0.03$) y a las 2300 h (Holm-Sidak $t=2.15$, $P\leq 0.03$). En el caso del número de episodios de sueño MOR en la condición de la fase AL1 (véase Figura 35B), se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=5.71$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no entre las sublíneas ($F=0.29$, $gl=1$, $P=0.61$), ni una interacción sublínea X tiempo ($F=0.37$, $gl=11$, $P=0.96$).

En el caso del número de episodios de SOL en la condición de la fase AL2 (véase Figura 35C) se obtuvo una diferencia en el tiempo ($F=26.05$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no entre las sublíneas ($F=0.51$, $gl=1$, $P=0.50$), ni una interacción sublínea X tiempo ($F=0.82$, $gl=11$, $P=0.61$). En el número de episodios de sueño MOR en la condición de la fase AL2 (véase Figura 35D), se obtuvo una diferencia significativa en el tiempo ($F=11.02$, $gl=11$, $P\leq 0.001$), pero no entre las sublíneas ($F=0.17$, $gl=1$, $P=0.69$) ni una interacción sublínea X tiempo ($F=1.87$, $gl=11$, $P=0.06$).

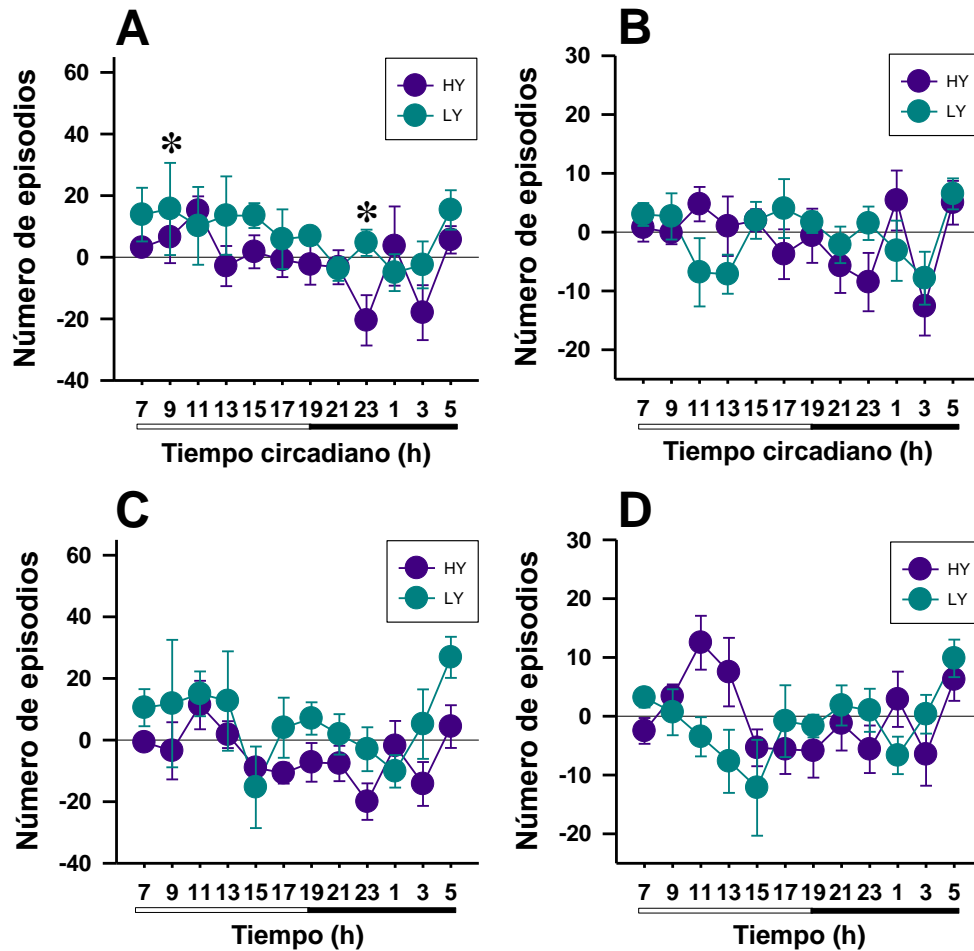


Figura 36. Número de episodios de sueño de ondas lentas y sueño de movimientos oculares rápidos después de la ingesta de alcohol entre las sublíneas. A) Número de episodios de SOL en la condición de la fase AL1. Existen diferencias significativas entre las sublíneas a las 0900 h (ANOVA $F=9.65$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $*P\leq 0.03$) y las 2300 h (ANOVA $F=9.65$, $gl=11$, $P\leq 0.001$; Holm-Sidak $*P\leq 0.03$). **B)** Número de episodios de sueño MOR en condición AL1. No existen diferencias significativas entre las sublíneas. **C)** Número de episodios de SOL en condición AL2. No existen diferencias significativas entre las sublíneas. **D)** Número de episodios de sueño MOR en condición AL2. No existen diferencias significativas entre las sublíneas.

9.3.6 Análisis del ciclo sueño-vigilia mediante COSINOR en las ratas de alto y bajo bostezo en condiciones control y después de la ingesta de alcohol

A continuación, se muestran los componentes del análisis COSINOR para la vigilia, SOL y sueño MOR en ambas sublíneas en condiciones control y después de la ingesta de alcohol en las fases AL1 y AL2.

Tabla 2. Componentes COSINOR para la duración de la vigilia en ratas HY y LY

	Condición	MESOR	Amplitud	Acrofase
HY	Control	66.27 (62.50, 70.05)	21.38 (14.45, 28.32)	-4.86 (-5.12, -4.56)
	AL1	63.03 (58.78, 67.27)	13.89 (10.49, 17.28)	-5.07 (-5.52, -4.56)
	AL2	63.20 (59.43, 66.98)	18.06 (13.63, 22.49)	-5.24 (-5.48, -5.07)
LY	Control	62.58 (58.05, 67.11)	5.13 (-12.97, 23.23)	-4.66 (NA)
	AL1	58.44 (54.63, 62.26)	10.23 (2.13, 18.33)	-5.12 (-5.66, -4.34)
	AL2	57.58 (52.97, 62.18)	15.95 (7.40, 24.50)	-5.16 (-5.57, -4.99)

Tabla 3. Componentes COSINOR para la duración del sueño de ondas lentas en ratas HY y LY

	Condición	MESOR	Amplitud	Acrofase
HY	Control	42.52 (39.29, 45.76)	17.50 (11.06, 23.94)	-1.67 (-1.94, -1.38)
	AL1	45.68 (42.90, 48.46)	14.61 (10.44, 18.79)	-1.75 (-2.08, -1.31)
	AL2	46.02 (43.40, 48.64)	16.58 (12.63, 20.53)	-1.92 (-2.12, -1.76)
LY	Control	45.13 (39.96, 50.30)	9.45 (-3.32, 22.21)	-1.36 (NA)
	AL1	49.71 (46.00, 53.41)	13.74 (7.80, 16.69)	-1.58 (-1.79, -1.30)
	AL2	50.47 (46.64, 54.30)	17.85 (12.00, 23.70)	-1.69 (-1.85, -1.58)

Tabla 4. Componentes COSINOR para la duración del sueño con movimientos oculares rápidos en ratas HY y LY

	Condición	MESOR	Amplitud	Acrofase
HY	Control	10.16 (9.09, 11.23)	4.13 (2.32, 5.95)	-2.43 (-2.89, -1.73)
	AL1	11.26 (9.78, 12.75)	3.50 (1.64, 5.35)	-3.37 (-3.99, -2.63)
	AL2	10.04 (8.23, 11.84)	4.88 (3.33, 6.42)	-3.30 (-4.04, -2.61)
LY	Control	12.21 (10.80, 13.62)	4.59 (-0.24, 9.42)	-4.29 (NA)
	AL1	11.92 (10.80, 13.04)	5.65 (3.86, 7.44)	-3.99 (-4.57, -3.51)
	AL2	11.88 (10.20, 13.57)	6.01 (3.96, 8.06)	-3.75 (-4.23, -2.94)

9.3.6.1 La duración de la vigilia, SOL y sueño MOR en ratas HY y LY en condiciones control

En las ratas HY (véase Figura 36A), la vigilia tiene un MESOR de 66.27 (62.50, 70.05), una amplitud de 21.38 (14.45, 28.32) y una acrofase de -4.86 (-5.12, -4.56), a las 23:54 h. En las ratas LY, la vigilia tiene un MESOR de 62.58 (58.05, 67.11), una amplitud de 5.13 (-12.97, 23.23) y una acrofase de -4.66 (NA), a las 23:03 h. Al comparar la distribución temporal de la vigilia entre las sublíneas, se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase ($F=10.66$, $P<0.01$) de la función COSINOR, pero no se obtuvieron diferencias significativas en el valor del MESOR ($F=2.37$, $P=0.14$), ni en la amplitud del ciclo ($F=0.80$, $P=0.38$). La distribución temporal de la vigilia de las ratas HY se acopla a la ecuación sinusoidal del análisis COSINOR, mostrando un ritmo circadiano con una acrofase a las 23:54 h ($F=31.76$, $P<0.001$), en cambio, en las ratas LY mediante el análisis COSINOR obtuvimos una ausencia de un ritmo circadiano ($F=1.46$, $P=0.22$).

Para el SOL (véase Figura 36B), las ratas HY tuvieron un valor de MESOR de 42.52 (39.29, 45.76), una amplitud de 17.50 (11.06, 23.94) y una acrofase de -1.67 (-1.94, -1.38). Las ratas LY obtuvieron un valor de MESOR de 45.13 (39.96, 50.30), una amplitud de 9.45 (-3.32, 22.21) y una acrofase de -1.36 (NA). Se obtuvo una diferencia significativa de la acrofase de la función COSINOR entre las sublíneas ($F=17.55$, $P<0.01$), pero no en el valor del MESOR ($F=1.23$, $P=0.28$), ni de la amplitud ($F=0.33$, $P=0.57$). En ambas sublíneas, la distribución temporal del SOL se acopla a la función sinusoidal del análisis COSINOR, mostrando un ritmo circadiano del SOL con una acrofase a las 11:38 h ($F=34.69$, $P<0.001$), en las ratas HY, y el ritmo circadiano del SOL tuvo una acrofase a las 10:18 h ($F=8.64$, $P<0.001$) en el caso de las ratas LY.

En el sueño MOR (véase Figura 36C), las ratas HY obtuvieron un valor de MESOR de 10.16 (9.09, 11.23), una amplitud de 4.13 (2.32, 5.95), y una acrofase de -2.43 (-2.89, -1.73). En las ratas LY se obtuvo un valor de MESOR de 12.21 (10.80, 13.62), una amplitud de 4.59 (-0.24, 9.42) y una acrofase de -4.29 (NA). Al comparar ambas sublíneas, se obtuvo una diferencia significativa del MESOR de la función COSINOR del sueño MOR ($F=8.41$, $P<0.05$), pero no se obtuvieron diferencias significativas en la amplitud ($F=0.01$, $P=0.91$), ni en la acrofase ($F=4.01$, $P=0.06$). En ambas sublíneas, la distribución temporal del sueño MOR se acopla a la función sinusoidal del análisis COSINOR. Las ratas HY presentaron un ritmo circadiano de sueño MOR, con una acrofase a las 14:27 h ($F=9.17$, $P<0.001$); mientras que en las ratas LY la acrofase de su ritmo circadiano de sueño MOR se presentó a las 21:39 h ($F=7.8$, $P<0.001$).

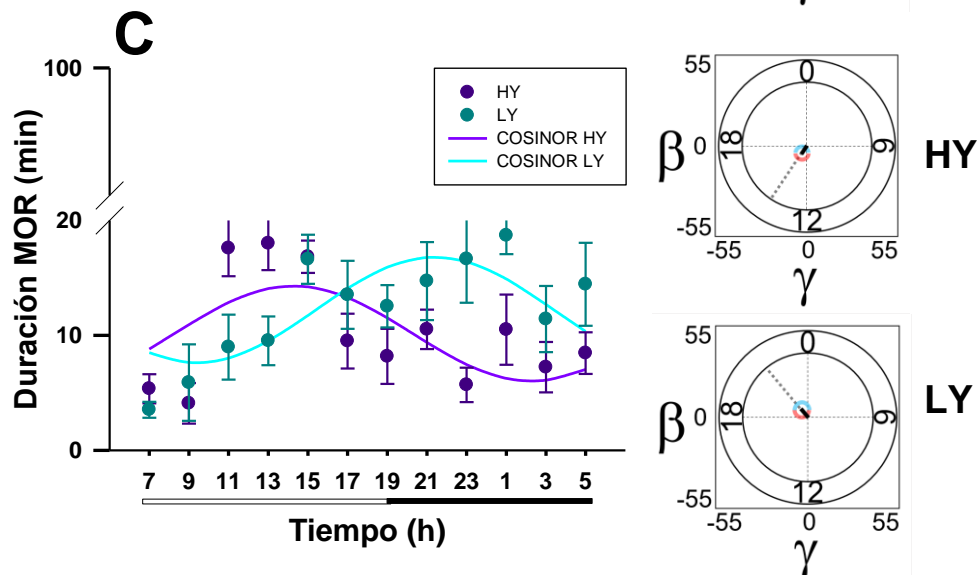
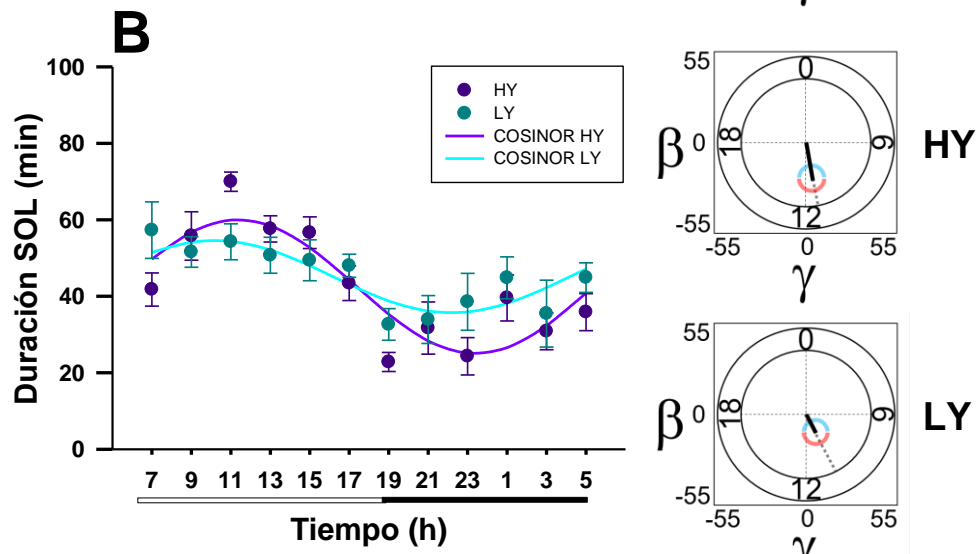
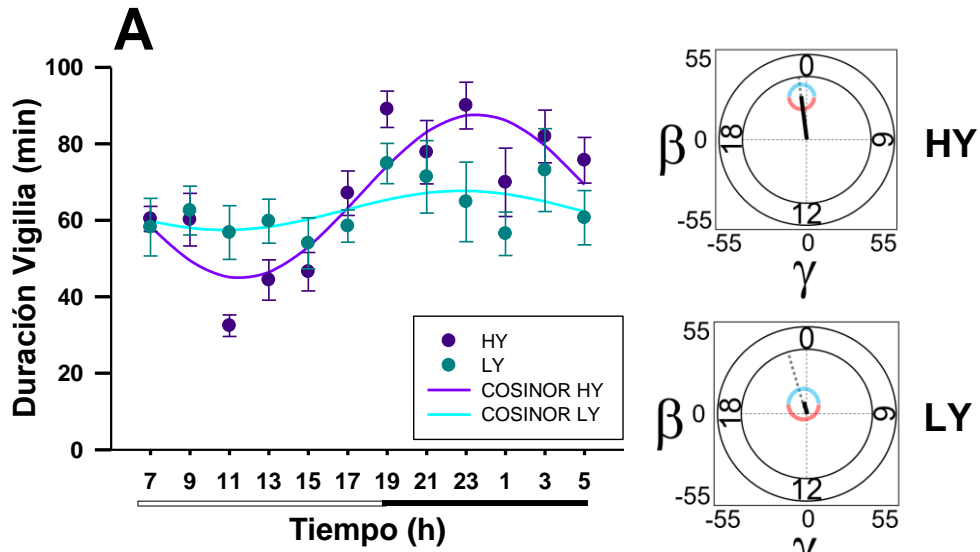


Figura 37. Distribución temporal de la vigilia, el sueño de ondas lentas y el sueño con movimientos oculares rápidos en ratas de alto y bajo bostezo en condiciones control.

A) Ajuste de la duración de la vigilia durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa de la acrofase entre las sublíneas ($F=10.66$, $P<0.01$). Las ratas HY muestran un ritmo circadiano de la vigilia ($F=31.76$, $P<0.001$). **B)** Ajuste de la duración del sueño de ondas lentas durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa de la acrofase entre las sublíneas ($F=17.55$, $P<0.01$). Se obtuvo un ritmo circadiano del sueño de ondas lentas, en las ratas HY ($F=34.69$, $P<0.001$) y LY ($F=8.64$, $P<0.001$). **C)** Ajuste de la duración del sueño con movimientos oculares rápidos durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa en el valor del MESOR entre las sublíneas ($F=8.41$, $P<0.05$). Se obtuvo un ritmo circadiano del sueño con movimientos oculares rápidos en las ratas HY ($F=9.17$, $P<0.001$) y en las LY ($F=7.8$, $P<0.001$), con una diferencia en la acrofase entre las sublíneas.

9.3.6.2. Duración de la vigilia, SOL y sueño MOR en ratas HY después de la ingesta de alcohol

En la vigilia (véase Figura 37A), se obtuvo un valor de MESOR de 63.03 (58.78, 67.27), una amplitud de 13.89 (10.49, 17.28) y una acrofase de -5.07 (-5.52, -4.56) después de la primera fase de exposición al alcohol como única fuente de hidratación durante 7 días (AL1). En el periodo de medición a la preferencia al alcohol por 3 semanas (fase AL2), se obtuvo un valor de MESOR de 63.20 (59.43, 66.98), una amplitud de 18.06 (13.63, 22.49) y una acrofase de -5.24 (-5.48, -5.07). Se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase de la función COSINOR de la vigilia en la condición AL1 ($F=10.92$, $P<0.01$) y en la condición AL2 ($F=23.27$, $P<0.001$) con respecto al control. Sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en el MESOR ($F=1.82$, $P=0.19$), ni en la amplitud ($F=0.62$, $P=0.43$) en la condición AL1 con respecto al control; ni se obtuvieron diferencias significativas en el MESOR ($F=1.84$, $P=0.19$), ni en la amplitud ($F=0.10$, $P=0.75$) en la condición AL2 con respecto al control. En las tres condiciones, la distribución temporal de la vigilia se acopla a la función sinusoidal del análisis COSINOR. Las ratas HY presentaron un ritmo circadiano de la vigilia en la condición AL1 ($F=13.28$, $P<0.001$) con una acrofase a las 00:36 h, y en la condición AL2 ($F=31.43$, $P<0.001$) con una acrofase a las 01:02 h.

En el caso del SOL (véase Figura 37B), las ratas HY presentaron un valor de MESOR de 45.68 (42.90, 48.46), una amplitud de 14.61 (10.44, 18.79) y una acrofase de -1.75 (-2.08, -1.31) en la condición AL1. En la condición AL2, se obtuvo un valor del MESOR de 46.02 (43.40, 48.64), una amplitud de 16.58 (12.63, 20.53) y una acrofase de -1.92 (-2.12, -1.76). En la condición AL1 se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase de la función COSINOR del SOL con respecto al control

($F=11.89$, $P<0.01$), pero no en el valor del MESOR ($F=3.05$, $P=0.10$). De la misma manera, en la condición AL2 se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase con respecto al control ($F=27.16$, $P<0.001$), pero no se obtuvieron diferencias significativas en el MESOR ($F=3.94$, $P=0.06$), ni en la amplitud ($F=0.01$, $P=0.92$). En ambas condiciones, existe un ritmo circadiano del SOL, y los datos se ajustan significativamente a la función sinusoidal del análisis COSINOR en la condición AL1 ($F=24.67$, $P<0.001$) con una acrofase a las 12:07 h y en la condición AL2 ($F=47.80$, $P<0.001$) con una acrofase a las 12:31 h.

En el sueño MOR (véase Figura 37C), las ratas HY en la condición AL1 se obtuvo un valor de MESOR de 11.26 (9.78, 12.75), una amplitud de 3.50 (1.64, 5.35) y una acrofase de -3.37 (-3.99, -2.63). En la condición AL2 se obtuvo un valor de MESOR de 10.04 (8.23, 11.84), una amplitud de 4.88 (3.33, 6.42) y una acrofase de -3.30 (-4.04, -2.61). Con respecto al control, se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase de la función COSINOR del sueño MOR en la condición AL1 ($F=55.64$, $P<0.05$) con respecto al control, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en el MESOR ($F=2.02$, $P=0.17$), ni en la amplitud ($F=0.03$, $P=0.86$). Sin embargo, en la condición AL2 no se obtuvieron diferencias significativas en el MESOR ($F=0.01$, $P=0.89$), en la amplitud ($F=0.03$, $P=0.85$), ni en la acrofase ($F=3.22$, $P=0.09$) con respecto al control. La distribución temporal del sueño MOR se ajustan a la función sinusoidal del análisis COSINOR, existiendo un ritmo circadiano de sueño MOR en la condición AL1 ($F=5.72$, $P<0.01$) con una acrofase a las 18:41 h; y en la condición AL2 ($F=12.79$, $P<0.001$) con una acrofase a las 18:00 h.

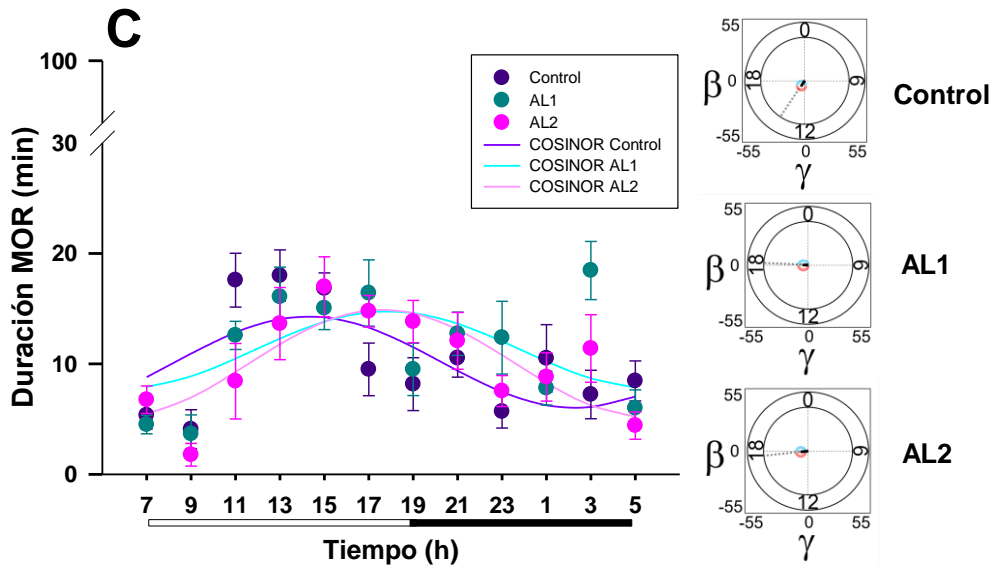
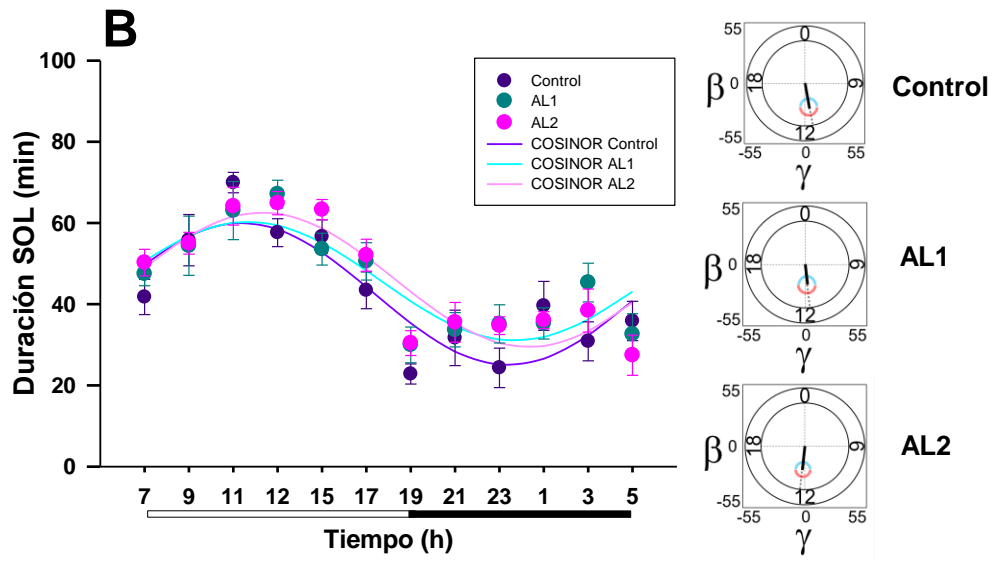
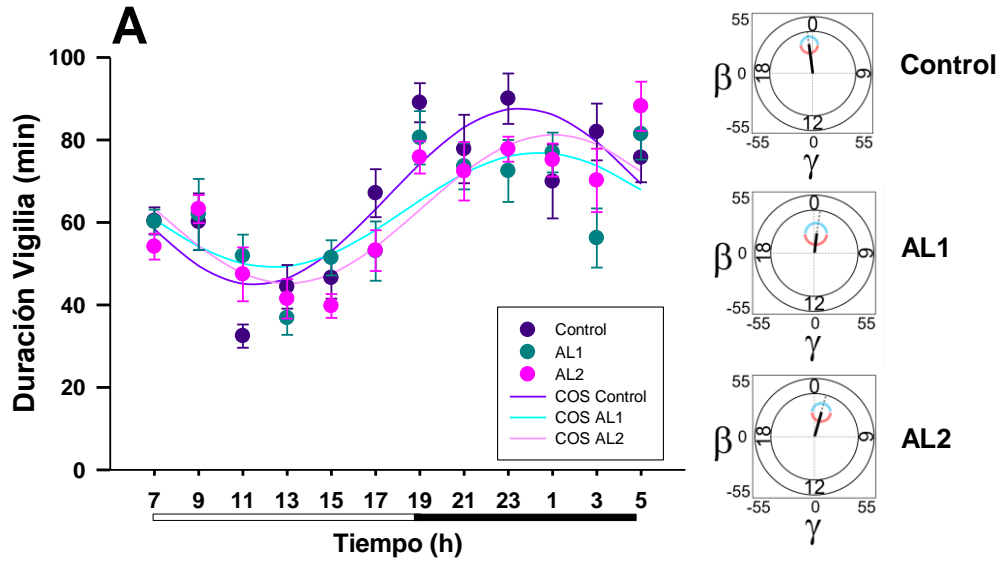


Figura 38. Distribución temporal de la vigilia, el sueño de ondas lentas y el sueño MOR en ratas de alto bostezo después de la ingesta de alcohol. A) Ajuste de la duración de la vigilia durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase en la condición AL1 ($F=10.92$, $P<0.01$) y AL2 ($F=23.27$, $P<0.001$) con respecto al control. Se obtuvo un ritmo circadiano de la vigilia en las ratas HY en la condición AL1 ($F=13.28$, $P<0.001$) y AL2 ($F=31.43$, $P<0.001$), con un retraso de la acrofase en ambas condiciones. **B)** Ajuste de la duración del sueño de ondas lentas durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase en la condición AL1 ($F=11.89$, $P<0.01$) y AL2 ($F=27.16$, $P<0.001$) con respecto al control. Se obtuvo un ritmo circadiano del sueño de ondas lentas en las ratas HY en la condición AL1 ($F=24.67$, $P<0.001$) y AL2 ($F=47.80$, $P<0.001$), con un retraso de la acrofase en ambas condiciones. **C)** Ajuste de la duración del sueño con movimientos oculares rápidos durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase en la condición AL1 ($F=55.64$, $P<0.05$), pero no en la condición AL2 con respecto al control. Se obtuvo un ritmo circadiano del sueño con movimientos oculares rápidos en las ratas HY en la condición AL1 ($F=5.72$, $P<0.01$) y AL2 ($F=12.79$, $P<0.001$), con un retraso de la acrofase en ambas condiciones.

9.3.6.3 Duración de la vigilia, SOL y sueño MOR en ratas LY después de la ingesta de alcohol

En la vigilia (Figura 38A), se obtuvo un valor del MESOR de 58.44 (54.63, 62.26), una amplitud de 10.23 (2.13, 18.33) y una acrofase de -5.12 (-5.66, -4.34) en la condición AL1. En la condición AL2, se obtuvo un valor de MESOR de 57.58 (52.97, 62.18), una amplitud de 15.95 (7.40, 24.50) y una acrofase de -5.16 (-5.57, -4.99). Al comparar con el control, no se obtuvo una diferencia significativa en la condición AL1 en el MESOR ($F=3.21$, $P=0.10$), amplitud ($F=0.07$, $P=0.79$), ni en la acrofase ($F=2.28$, $P=0.16$); de la misma manera, no se obtuvieron diferencias significativas en la condición AL2 en el MESOR ($F=3.96$, $P=0.07$), en la amplitud ($F=0.30$, $P=0.59$), pero sí en la acrofase ($F=4.94$, $P\leq 0.5$) de la vigilia. Los datos de la distribución temporal e la vigilia se ajustan a la función sinusoidal del análisis COSINOR en la condición AL1 ($F=7.36$, $P<0.001$) con una acrofase a las 00:54 h, y en la condición AL2 ($F=12.76$, $P<0.001$) con una acrofase a las 07:00 h.

Para el SOL (Figura 38B), en condiciones AL1, las ratas LY se obtuvo un valor del MESOR del 49.71 (46.00, 53.41), una amplitud de 13.74 (7.80, 16.69), una acrofase de -1.58 (-1.79, -1.30). En la condición AL2, se obtuvo un valor del MESOR de 50.47 (46.64, 54.30), una amplitud de 17.85 (12.00, 23.70) y una acrofase de -1.69 (-1.85, -1.58). En la condición AL1, se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase del SOL ($F=41.28$, $P<0.001$) con respecto al control, pero no se obtuvieron diferencias significativas en el MESOR ($F=3.42$, $P=9.41$), ni en la amplitud ($F=0.09$, $P=0.75$). De igual modo, en la condición AL2 se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase ($F=76.69$, $P<0.001$) con respecto al control, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en el MESOR ($F=4.55$, $P=0.06$), ni en la amplitud ($F=0.37$, $P=0.55$). Los datos de la distribución temporal del SOL se ajustan a la función sinusoidal del análisis COSINOR, mostrando un ritmo circadiano del SOL en la condición AL1 ($F=21.00$, $P<0.001$); con una acrofase a las 11:04 h, y en la condición AL2 ($F=29.97$, $P<0.001$); con una acrofase a las 11:44 h.

Para el caso del sueño MOR (véase Figura 38C), las ratas LY en la condición AL1 obtuvieron un valor de MESOR de 11.92 (10.80, 13.04), una amplitud de 5.65 (3.86, 7.44) y una acrofase de -3.99 (-4.57, -3.51). En la condición AL2 las ratas LY obtuvieron un valor de MESOR de 11.88 (10.20, 13.57), una amplitud de 6.01 (3.96, 8.06) y una acrofase de -3.75 (-4.23, -2.94). Con respecto al control, en la condición AL1 se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase del sueño MOR ($F=8.95$, $P<0.05$), pero no en el MESOR ($F=0.16$, $P=0.69$), ni en la amplitud ($F=0.05$, $P=0.81$). Igualmente, en la condición AL2 se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase ($F=6.40$, $P<0.05$) con respecto a las condiciones control, pero no se obtuvieron diferencias significativas en el MESOR ($F=0.14$, $P=0.71$), ni en la amplitud ($F=0.09$, $P=0.76$). La distribución del sueño MOR se ajusta a la función sinusoidal del análisis COSINOR, con un ritmo circadiano del sueño MOR en la condición AL1 ($F=16.69$, $P<0.001$), con una acrofase a las 20:25 h y en la condición AL2 ($F=11.74$, $P<0.001$) con una acrofase a las 19:30 h.

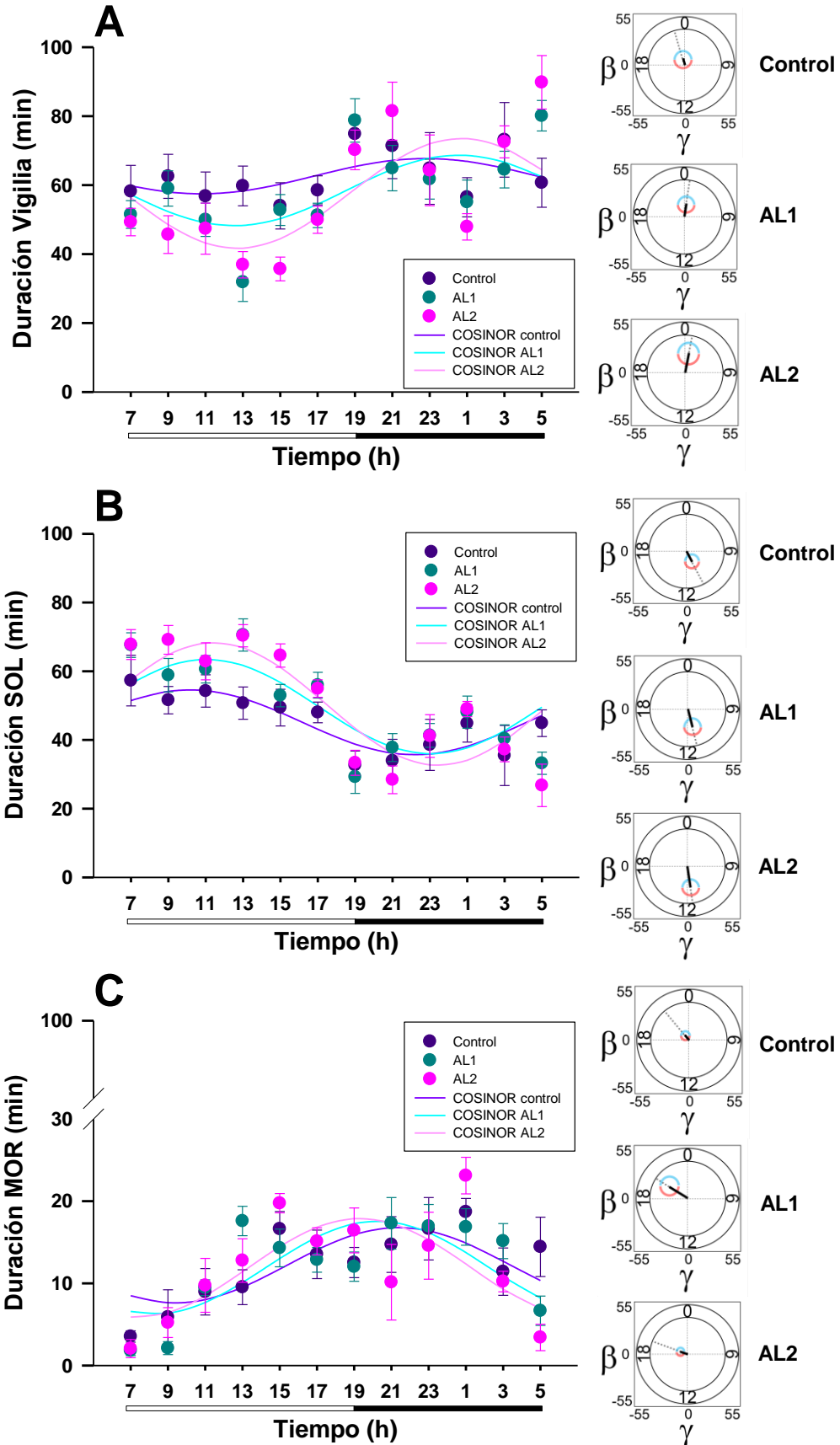


Figura 39. Distribución temporal de la vigilia, sueño de ondas lentas y sueño MOR en ratas de bajo bostezo después de la ingesta de alcohol. A) Ajuste de la duración de la vigilia durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase en la condición AL2 ($F=4.94$, $P\leq 0.5$) con respecto al control. Se obtuvo un ritmo circadiano de la vigilia en las ratas LY en la condición AL1 ($F=7.36$, $P<0.001$) y AL2 ($F=12.76$, $P<0.001$), con un retraso en la acrofase en ambas condiciones. **B)** Ajuste de la duración del sueño de ondas lentas durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase en la condición AL1 ($F=41.28$, $P<0.001$) y AL2 ($F=76.69$, $P<0.001$) con respecto al control. Se obtuvo un ritmo circadiano del sueño de ondas lentas en las ratas LY en la condición AL1 ($F=21.00$, $P<0.001$) y AL2 ($F=29.97$, $P<0.001$), con un retraso de la acrofase en ambas condiciones con respecto al control. **C)** Ajuste de la duración del sueño con movimientos oculares rápidos durante las 24 h de registro con la función sinusoidal del análisis COSINOR. Se obtuvo una diferencia significativa en la acrofase en la condición AL1 ($F=8.95$, $P<0.05$) y en la condición AL2 ($F=6.40$, $P<0.05$) con respecto al control. Se obtuvo un ritmo circadiano del sueño con movimientos oculares rápidos en las ratas LY en la condición AL1 ($F=16.69$, $P<0.001$) y AL2 ($F=11.74$, $P<0.001$), con un adelanto de la acrofase en ambas condiciones.

10. Discusión

10.1 Ingesta de alcohol

Las ratas LY tuvieron un 14% mayor de ingesta de alcohol ajustado al peso de los sujetos experimentales y presentaron un índice de preferencia al consumo total de alcohol de un 17% mayor con respecto a las ratas HY. Este mayor consumo de alcohol en las ratas LY se obtuvo en las primeras dos semanas de exposición al alcohol, que comprenden la denominada fase AL1 de habituación al alcohol como única fuente de hidratación y la primera semana de la fase AL2 en la que se evaluó la preferencia al consumo de alcohol y de agua; y permaneció siendo mayor que la de las ratas HY, en las dos semanas subsiguientes de la fase AL2, aunque durante este periodo la diferencia del consumo de alcohol no alcanzó a ser significativa entre ambas sublíneas. A partir de la semana 2, en la que se puso a disponibilidad una botella con agua purificada, las ratas de ambas sublíneas incrementaron su ingesta de agua hasta un 80%, siendo significativamente mayor a la ingesta de

alcohol, pero sin haberse obtenido diferencias significativas en el consumo de agua entre ambas sublíneas. Sin embargo, y como se mencionó anteriormente, en la semana 2, en la se tuvo disponibilidad al agua, la ingesta de alcohol seguía siendo significativamente mayor en las ratas LY con respecto a las ratas HY (véase las Figuras 15-18).

Nuestros resultados son coincidentes con lo reportado en la literatura en donde las ratas que presentan algún fenotipo de ansiedad como lo son las ratas de alta conducta ansiosa (HAB, del inglés High-Anxiety Behavior), las cuales presentaron una mayor ingesta de alcohol con respecto a las ratas de baja conducta ansiosa (LAB, del Inglés Low-Anxiety Behavior) en un paradigma de libre elección al alcohol, inclusive cuando estuvo disponible una solución con sacarosa que también opera como un reforzador (Henniger *et al.*, 2002). De igual manera, las ratas de la línea Roman de alta evitación (RHA, de sus siglas en inglés), tanto en la línea exogámica (Giorgi *et al.*, 2007), como en la endogámica (Manzo *et al.*, 2012) muestran un mayor consumo y preferencia al alcohol con respecto de su contraparte. Por otra parte, las ratas de la línea Roman de baja evitación (RLA, de sus siglas en inglés), presentan una mayor preferencia y consumo de agua simple dentro de un paradigma de libre elección (Manzo *et al.*, 2012). En cuanto a la línea Flinders sensible a agonistas colinérgicos (FSL, de sus siglas en inglés), las cuales también han sido propuestas como un modelo de depresión, presentan una mayor ingesta y preferencia al alcohol con respecto a su contraparte, las ratas Flinders resistentes a agonistas colinérgicos (FRL, de sus siglas en inglés), pero esta diferencia no es significativa (Overstreet *et al.*, 1993). Sin embargo, el índice de preferencia al alcohol reportado por Overstreet *et al.*, (1992) es de un ~17%, lo cual es similar al índice de preferencia presentado por las ratas LY (véase Figura 18).

En una variedad de estudios se ha reportado que la ansiedad como un rasgo conductual de los animales es un factor predisponente para la preferencia al consumo de alcohol (Jadhav *et al.*, 2017; Lester & Freed, 1973; Manzo *et al.*, 2012; McBride & Li, 1998; Langen & Fink, 2004; Momeni & Roman, 2014). Tanto las ratas que han sido expuestas a un estresor crónico o agudo (Becker *et al.*, 2011; Brunell & Spear, 2005; Roeckner *et al.*, 2017; Spanagel *et al.*, 2014), así como las ratas que presentan un mayor de nivel de ansiedad basal cuando son evaluadas en pruebas conductuales psicofisiológicas como son el laberinto en cruz elevado, el campo abierto y la caja luz-oscuridad (Jadhav *et al.*, 2017; Badishtov *et al.*, 1995; Overstreet *et al.*, 1992), tienen un mayor consumo de alcohol dentro de un paradigma de ingesta voluntaria y de libre elección. Esto se debe a que el alcohol disminuye la ansiedad al actuar sobre el eje HPA y el sistema límbico (Moonat *et al.*, 2010).

En la respuesta al estrés, existe un aumento en la secreción del factor liberador de corticotropina (CRF, de sus siglas en inglés) en el núcleo paraventricular del hipotálamo, además de otras estructuras del sistema límbico como son la amígdala y el núcleo del lecho de la estría terminal, junto con un aumento de la hormona adrenocorticotropa (ACTH, de sus siglas en inglés), la cual desencadena la liberación de catecolaminas al torrente sanguíneo (Herman & Cullinan, 1997). El alcohol afecta la reactividad del eje HPA al producir una disminución de la secreción de CRF y ACTH (Sillaber & Henniger, 2004). En ratas de la cepa Wistar con una preferencia al alcohol, en un protocolo de ingesta voluntaria de alcohol, mostraron una disminución significativa de la ingesta de alcohol después de ser adrenalectomizadas, y posteriormente presentaron un aumento en su consumo voluntario de alcohol después de recibir un tratamiento de reemplazo con corticosterona (Fahlke *et al.*, 1994). Esto indica que la disminución de CRF y de ACTH produce una reducción de la respuesta del eje HPA ante estresores y una disminución de los niveles de dopamina, serotonina y noradrenalina en el tallo cerebral y en el sistema límbico, lo que reduce el efecto reforzador del alcohol, específicamente en sujetos que presentan una preferencia y un mayor consumo de alcohol (Sillaber & Henniger, 2004). Adicionalmente, se ha reportado que el receptor a CRF tipo 1 (CRF-R1) tiene una función importante en la regulación de la ingesta de alcohol (Silberman *et al.*, 2009), ya que este receptor regula el efecto ansiogénico del CRF, y junto con el aumento de GABA en las neuronas del núcleo central de la amígdala producen un aumento en la ingesta voluntaria de alcohol (Silberman *et al.*, 2009). Sin embargo, este efecto ansiolítico del alcohol y la disminución en la reactividad del eje HPA sólo se ha reportado en dosis bajas y moderadas de alcohol, lo cual equivale a soluciones con concentraciones del 5-10% de alcohol (Spanagel *et al.*, 2014). Por otra parte, el consumo crónico de alcohol produce una regulación a la baja de los receptores a glucocorticoides en áreas del sistema límbico como son el área ventral tegmental, la amígdala y el núcleo accumbens (Fahlke *et al.*, 1994), lo que aumenta la secreción de dopamina y produce un reforzamiento positivo que puede desencadenar una neuroadaptación para el desarrollo de la dependencia al alcohol (Brodie *et al.*, 1990).

En cuanto al peso corporal, las ratas LY tuvieron un peso menor al de las ratas HY durante las cuatro semanas de experimentación, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en la ingesta de alimento entre ambas sublíneas durante las cuatro semanas de exposición al alcohol, así como tampoco tuvieron una disminución en la ingesta de calorías totales o provenientes de la ingesta de alcohol y de alimento con respecto a lo obtenido en las ratas HY. En ratas con fenotipo ansioso como las ratas Flinders FSL, propuesta como un modelo de depresión (Overstreet, 1993), suelen tener

menor peso corporal con respecto su contraparte, las ratas Flinders FRL y a las ratas de la cepa Sprague-Dawley de la cual provienen. Aunque la ingesta de agua y alimento es menor en la sublínea FSL después de ser expuesta a estrés agudo como son las descargas eléctricas breves en las plantas de las patas, en condiciones basales no presentan una disminución en la ingesta de alimento con respecto de las ratas FRL y de las ratas Sprague-Dawley. Por lo tanto, es importante remarcar que a pesar de que la disminución del peso corporal puede considerarse como un síntoma de anhedonia, en la depresión también se presentan aumentos del peso corporal, y por lo tanto es importante determinar los cambios en el peso corporal en relación con la ingesta de alimento (Overstreet, 1993), como en el caso de las ratas LY, las cuales no disminuyeron su ingesta de alimento.

10.2 Laberinto en cruz elevado

Las ratas HY tuvieron un mayor tiempo de permanencia en los brazos abiertos y un mayor número de entradas al centro con respecto de los brazos cerrados en el laberinto en cruz elevado, lo cual no cambió significativamente después de la ingesta de alcohol. Por otra parte, las ratas LY tienen un mayor tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado, y después de la ingesta de alcohol, aumenta el número de entradas a los brazos abiertos, lo que muestra un cierto grado de ansiólisis, lo que no se obtuvo en la sublínea HY.

La literatura reporta que las ratas con un fenotipo ansioso como son las ratas Lewis tienen un menor número de entradas y de permanencia a los brazos abiertos del laberinto, por lo tanto, prefieren los brazos cerrados (Chaouloff *et al.*, 1995). Sin embargo, después de la ingesta crónica de alcohol, se produce un aumento en el número de entradas y del tiempo de permanencia en los brazos abiertos debido al efecto ansiolítico del alcohol (Blokland *et al.*, 1992). Por otra parte, se ha reportado que en las sublíneas resilientes como son la Fischer 344, el alcohol no afecta de manera significativa el número de entradas o la permanencia en los brazos abiertos, ni en el centro del laberinto (Chaouloff *et al.*, 1995). Nuestros resultados coinciden con lo reportado en la literatura, ya que no obtuvimos cambios significativos en las ratas HY, que tienen un fenotipo resiliente similar a las Fischer 344, así como en las Roman Low Avoidance (RLA). De igual manera, en las ratas Flinders FSL y FRL, la ingesta de alcohol produce un aumento en el tiempo de permanencia y en el número de entradas a los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado, sin embargo, este aumento no es significativo en el caso de las ratas FRL (Overstreet *et al.*, 1992), por lo que las líneas que son resilientes tienen un menor efecto ansiolítico por el alcohol en la prueba del laberinto en cruz elevado.

El análisis conductual que realizamos en la prueba del laberinto en cruz elevado fue con una duración de 3 minutos en lugar de una duración estándar de 5 minutos, debido a que varios autores han reportado que, mediante un análisis de la conducta de la rata minuto a minuto, el número de las entradas y el tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado durante los primeros 3 minutos tienen una mayor asociación a la conducta de ansiedad y no a la actividad motora o a la evaluación de riesgos que se determinan mejor en pruebas con duración de 5 minutos (Carobrez & Bertoglio, 2005; Doremus *et al.*, 2006). Debido a que en esta prueba las ratas se encuentran ante un conflicto entre explorar un ambiente novedoso o buscar una zona de seguridad, dependiendo del nivel de ansiedad basal de la rata, esta elegirá entre los brazos abiertos o cerrados del laberinto sin presentar una habituación a las diferentes áreas del laberinto (Carobrez & Bertoglio, 2005; Cruz *et al.*, 1994). Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la literatura reporta que las ratas con un fenotipo ansioso como son las ratas de alta conducta de ansiedad (HAB) presentan desde los 3 primeros minutos una preferencia por los brazos cerrados del laberinto en cruz elevado (Salomé *et al.*, 2006) y posteriormente presentan conductas de evaluación de riesgos como lo es permanecer en los brazos cerrados o en el centro del laberinto y estirar su cuerpo en dirección a los brazos abiertos o al borde de este (Rodgers & Dalvi, 1997), además de una disminución total de la conducta motora, es decir, presentan un número reducido de entradas a los brazos abiertos, a los cerrados y al centro del laberinto (Rodgers & Dalvi, 1997). En el caso de las ratas LY, dentro de este análisis durante los primeros 3 minutos en el laberinto en cruz elevado, presentaron un mayor tiempo de permanencia en los brazos abiertos con respecto a los brazos cerrados y al centro del laberinto, lo cual es un resultado contradictorio a lo reportado en otras líneas de ratas con un fenotipo ansioso como las HAB, RHA y Lewis (Salomé *et al.*, 2006; Chaouloff *et al.*, 1995). Sin embargo, se ha reportado que las características del laberinto influyen en la conducta de las ratas, por ejemplo, la presencia de bordes de 0.5 cm de altura en los brazos abiertos, así como una transparencia de los brazos cerrados aumentan el número de entradas y el tiempo de permanencia a los brazos abiertos, lo cual sugiere una disminución de la aversión a los brazos abiertos y un aumento en la conducta exploratoria del animal (Horii & Kawaguchi, 2015).

Adicionalmente, el número de entradas y del tiempo de permanencia en los brazos abiertos o cerrados del laberinto, existen otras conductas que denotan ansiedad, como son el aseo, las exploraciones verticales o los erguidos en los que las ratas se apoyan sobre sus extremidades posteriores, los asomos o “*head dips*” en los que las ratas asoman su cabeza por los bordes y en los extremos de los brazos abiertos. Ninguna de las sublíneas presentó la conducta de aseo durante los

3 min de evaluación en el laberinto en cruz elevado, lo cual es un resultado inesperado, ya que al exponer a las ratas ante un ambiente novedoso se incrementa el número de episodios de aseo de corta duración (Eguibar & Moyaho, 1997). El aseo de las ratas en el laberinto en cruz elevado se ha asociado a una conducta de desplazamiento, la cual es una estrategia de afrontamiento ante la ansiedad producida por la exposición a la prueba (Rodgers & Dalvi, 1997) y en un análisis de conducta minuto a minuto, se ha reportado que el aseo sucede hasta después de 5 min de haber iniciado la prueba (Carobrez & Bertoglio, 2005; Estanislau, 2012), ya que tanto el aseo como el bostezo pueden ser un mecanismo para disminuir las respuestas al estrés, y por eso aparecen tardíamente (Delius, 1988). Por otra parte, las ratas LY presentaron un mayor número de “*head dips*” o asomos en la condición control, lo cual sugiere junto con el mayor número de entradas y de permanencia en los brazos abiertos, una mayor reactividad emocional (Ohl, 2003; Cruz *et al.* 1994); adicionalmente, después de la ingesta de alcohol las ratas LY tuvieron un aumento significativo de esta conducta, lo que también indica un efecto ansiolítico (Cruz *et al.* 1994). Otra conducta que incluimos fue el número de caídas de los bordes o de los extremos de los brazos abiertos del laberinto, las cuales ocurrieron únicamente en las ratas LY, y disminuyeron significativamente alrededor del 50% después de la ingesta de alcohol. Hasta la fecha, no se han reportado caídas de los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado, sin embargo, esta conducta podría estar asociada a las conductas exploratorias como los asomos o “*head dips*”, los cuales además de denotar una mayor reactividad emocional (Ohl, 2003), denotan una hiperactividad motora en la exploración (Rodgers & Dalvi, 1997). Adicionalmente, como expusimos anteriormente, la presencia de un borde con altura de 0.5 cm en los brazos abiertos los cuales tienen la finalidad de prevenir las caídas de las ratas, aumenta el tiempo de permanencia en los brazos abiertos y también aumenta el número de “*head dips*” desde sus extremos (Horii & Kawaguchi, 2015), lo cual soporta el resultado de que las ratas LY, a pesar de ser más susceptibles a los ambientes novedosos y expuestos, presentaron una menor aversión a los brazos abiertos del laberinto. Debido a esto, las caídas de los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado que presentaron las ratas LY pueden indicar un cierto grado de hiperactividad, la cual se ve disminuida después de la ingesta de alcohol. Sin embargo, se necesitan aún más estudios para confirmar esta propuesta. Por lo tanto, los resultados anteriores soportan la hipótesis de los efectos ansiolíticos del alcohol principalmente sobre la conducta de las ratas LY.

10.3 Sueño

No se obtuvieron diferencias significativas en la latencia al SOL, ni al sueño MOR entre las sublíneas en condición control, ni un cambio significativo después de la ingesta de alcohol como única fuente

de hidratación (fase AL1), ni después cuando se tuvo la opción de selección de agua purificada o la solución de alcohol (fase AL2). Este resultado fue inesperado, ya que en la literatura se ha reportado que la ingesta crónica de alcohol aumenta la latencia tanto de SOL como del sueño MOR en las ratas Sprague-Dawley (Mendelson & Hill 1978; Hill & Reyes, 1978), sin embargo, en estos estudios reportan la administración de alcohol de 1-2 g por inyección intraperitoneal o en una dieta líquida con una concentración de alcohol al 6%, lo cual produce una mayor cantidad de alcohol consumido en comparación con la cantidad que ingirieron las ratas HY y LY (véase Figura 16).

En nuestros resultados obtuvimos una diferencia significativa en la duración de la vigilia, en el SOL y en el sueño MOR entre ambas sublíneas (véase Figuras 27 y 28). La ingesta de alcohol tanto en las condiciones de la fase AL1 como en la fase AL2 produjeron una disminución significativa de la vigilia y un aumento significativo de la duración del SOL en ambas sublíneas, sin embargo, la ingesta de alcohol no modificó la duración del sueño MOR en ambas sublíneas (véase la Figura 28). Respecto al número de episodios de los diferentes estados del ciclo sueño-vigilia, la ingesta de alcohol no produjo cambios relevantes en ambas sublíneas, sin embargo, sí se obtuvo un aumento de la duración promedio de los episodios de SOL en las ratas LY, especialmente en la fase de oscuridad, que es la fase activa de este roedor noctámbulo (véase Figura 32). De la misma manera, el alcohol produjo cambios en la distribución temporal de los episodios de SOL y de sueño MOR, específicamente, un aumento del número de episodios de SOL y del sueño MOR durante la fase de luz y una reducción progresiva en las horas subsiguientes al inicio de la fase de oscuridad (véase Figuras 34-36). Estos cambios están presentes principalmente en las ratas LY después de las condiciones AL1 y AL2, lo que sugiere que el alcohol está facilitando su sueño. Estos resultados coinciden con la literatura en que la ingesta de alcohol a partir de una concentración al 6% en agua o en dieta líquida producen un aumento en la duración del SOL en las ratas Sprague-Dawley (Kubota *et al.*, 2002; Mukherjee *et al.*, 2008), específicamente en la fase de oscuridad (Mukherjee & Simasko, 2009), sin que se muestren cambios significativos en el sueño MOR, ya que los cambios en este se presentan con dosis >10% de alcohol (Mukherjee *et al.*, 2008). De manera similar, se ha reportado un aumento de la vigilia junto con una disminución del SOL en la fase de luz en las cepas heterogéneas de ratas albinas como son las Wistar o las Sprague-Dawley (Fernández *et al.*, 2016). Sin embargo, este efecto es mayor en protocolos de exposición aguda al alcohol y con vías de administración intragástrica o intraperitoneal, lo que simula un consumo tipo “*binge drinking*” o tipo borrachera (Sharma *et al.*, 2014).

Es importante señalar que las ratas LY presentaron mayores cambios en su ciclo sueño-vigilia con respecto a las ratas HY después de la ingesta de alcohol, lo cual puede indicar que las ratas con un fenotipo ansioso tienen una mayor susceptibilidad a los efectos del alcohol sobre su sueño. Por ejemplo, en ratas de líneas endogámicas como son la Roman de alta evitación (RHA), las cuales son un fenotipo ansioso, la ingesta de alcohol produce un incremento en la latencia al sueño de ondas lentas y en el sueño MOR, un aumento del porcentaje de sueño MOR y una disminución del porcentaje de sueño de ondas lentas en comparación con las ratas Roman de baja evitación (RLA), su contraparte resiliente (Steimer *et al.*, 1999), sin embargo, estos cambios del ciclo sueño-vigilia se producen a una concentración menor del 10% de alcohol.

Al realizar una búsqueda de artículos que describan las alteraciones en el ciclo sueño-vigilia después de la ingesta de alcohol en otros grupos de ratas con un fenotipo ansioso como lo son las Flinders sensitive line (FSL), Fischer 344 y la High anxiety behavior (HAB) junto a sus contrapartes resilientes, no se han realizado dichos estudios para la mayoría de las líneas de interés, ya que se han reportado por separado la descripción de su sueño en condiciones control, la preferencia en su ingesta de alcohol y los efectos conductuales que tiene el alcohol sobre conductas relacionadas a la ansiedad evaluadas en las pruebas psicobiológicas del laberinto en cruz elevado y en el campo abierto (véase Tabla 5).

Tabla 5. Caracterización del ciclo sueño-vigilia e ingesta de alcohol en líneas de ratas con un fenotipo ansioso

Líneas	Sueño-vigilia en condiciones control	Ingesta de alcohol	Efectos de la ingesta de alcohol en el sueño	Efectos del alcohol en la conducta	Referencias
RHA vs RLA	↑ SOL, ↑ latencia a sueño MOR, ↑ fragmentación del sueño	↑ ingesta de alcohol (10% en agua, dentro de un protocolo de libre elección).	↑ latencia a SOL y a sueño MOR, ↑ MOR, ↓ SOL	NR	(Steimer, 2011; Steimer <i>et al.</i> , 1999; Manzo <i>et al.</i> , 2012)
FSL vs FRL	↑ MOR, ↓ latencia a sueño MOR	↑ sensibilidad al alcohol (solución del 20% administrados vía intraperitoneal)	NR	↑ permanencia y número de entradas a los brazos abiertos en LCE (solución de alcohol al 10% en un protocolo de libre elección).	(Benca <i>et al.</i> , 1996; Pucilowski <i>et al.</i> , 1993; Overstreet <i>et al.</i> , 1990; Overstreet <i>et al.</i> , 1992)
Lewis vs Fischer 344	↓ vigilia, ↑ SOL	↑ ingesta de alcohol (6% en agua, dentro de un protocolo de libre elección).	NR	↑ permanencia y número de entradas a los brazos abiertos en el LCE ↑ entradas al centro en CA (solución al 20% por 6 meses).	(Opp, 1997; Suzuki <i>et al.</i> , 1988; Blokland <i>et al.</i> , 1992)
HAB vs LAB	↓ vigilia, ↑ SOL, ↑ número de episodios de SOL ↑ fragmentación del sueño	↑ ingesta de alcohol (5% en agua, dentro de un protocolo de libre elección).	NR	↑ número de entradas a los brazos abiertos en LEC. (Administración aguda de 1g/Kg de alcohol vía intraperitoneal).	(Landgraf & Wigger, 2002; Henniger <i>et al.</i> , 2002)
C57BL-6J vs BALBc (ratón)	↑ SOL, ↑ número de episodios de SOL ↓ vigilia	↑ ingesta de alcohol (10% en agua)	NR	↑ Permanencia en los brazos abiertos. ↑ Número de entradas a los brazos abiertos y a los cerrados (Administración aguda de 20% alcohol vía intraperitoneal).	(Daszuta <i>et al.</i> , 1983; Belknap & Deutsch, 1982; Lalonde & Strazielle, 2012)

Acotaciones: RHA= Roman High-avoidance; RLA= Roman Low-avoidance; FSL= Flinders sensitive line; FRL= Flinders resistant line; HAB= High-anxiety behavior; LAB= Low-anxiety behavior; LCE=laberinto en cruz elevado; CA= campo abierto; SOL= sueño de ondas lentas; MOR= sueño con movimientos oculares rápidos NR=no reportado.

La ingesta de alcohol en estas sublíneas producirá un efecto significativo en su ciclo sueño-vigilia, esto debido a las alteraciones que presentan en su sueño en condiciones basales y a la preferencia o mayor sensibilidad que muestran al alcohol en protocolos de libre elección o de ingesta no voluntaria. En este caso, de acuerdo con nuestros resultados, es de interés determinar cómo el alcohol induce el sueño en las ratas LY, y cómo es que su condición de ansiedad es un factor determinante para la preferencia al consumo de alcohol y para los efectos que tuvo este sobre su sueño.

Las ratas con una mayor susceptibilidad a la ansiedad presentan mayores alteraciones en su sueño con respecto a sus contrapartes resilientes debido a una bidireccionalidad en la actividad del eje HPA y por las regiones cerebrales involucradas en la regulación del sueño. Inicialmente, se ha planteado que una hiperactivación basal produce un incremento en el estado de alerta, por lo tanto, incrementa la vigilia y suprime el sueño (Sandor & Shapiro, 1994). Los núcleos aminérgicos que son el *locus coeruleus* y el núcleo del rafé dorsal, además de neuronas orexinérgicas del hipotálamo lateral están encargados de la promoción y para mantener la vigilia, también están involucrados en la activación simpática inducida por un estresor o por la ansiedad (Stanford *et al.*, 2014); y son activados de manera conjunta con el lecho de la estría terminal y el eje HPA por medio de proyecciones provenientes de la amígdala, y de esta manera, se produce un incremento en los niveles de cortisol circundante y se produce y mantiene un estado de alerta y de vigilia (Stanford *et al.*, 2014). El alcohol reduce la respuesta al estrés y a la ansiedad por medio de la disminución de la actividad del eje HPA, lo que involucra una reducción de la secreción de CRF y de ACTH, además de producir un incremento de dopamina en el área ventral tegmental, en el núcleo accumbens y en la amígdala, produciendo un efecto reforzador (Sillaber & Henniger, 2004); del mismo modo, el alcohol modula a los receptores GABA_A en distintas áreas como la corteza cerebral, el hipocampo, la amígdala y la hipófisis (Grobin *et al.*, 1998). Por otro lado, el alcohol induce el sueño por medio de la potenciación de la inhibición mediada por receptores GABA_A y la disminución de los niveles de glutamato, especialmente en los núcleos aminérgicos, en la corteza frontal y en el prosencéfalo basal, los cuales son promotores de la vigilia (Thakkar *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2014). Adicionalmente, se ha reportado que el alcohol inhibe la recaptura de adenosina extracelular, esto a través de la interacción con el transportador equilibrante de nucleósidos 1 (ENT1, de sus siglas en inglés; Sharma *et al.*, 2014), y este exceso de adenosina inhibe a la vez a las neuronas orexinérgicas del hipotálamo lateral por medio de los receptores a adenosina tipo 1 (AD1; Sharma *et al.*, 2014), de esta manera, se suprime la vigilia y se induce el sueño.

Esto coincide con lo reportado en sujetos humanos, en los que la ingesta de alcohol produce un efecto ansiolítico, y en el caso de los sujetos más ansiosos recurren al alcohol para aliviar su ansiedad (MacLean & Cairns, 1982), y para tratar el insomnio que comúnmente llegan a presentar en comorbilidad con la ansiedad (Brower *et al.*, 2001). Por otra parte, es importante remarcar que el alcohol induce el sueño en concentraciones menores al 10% del alcohol, lo que equivale a únicamente un trago estándar como lo es un vaso de cerveza, una copa de vino o 2 onzas de un destilado. Además, tanto en ratas como en humanos, el aumento de SOL causado por la ingesta de alcohol tiene menor densidad de actividad delta (Gann *et al.*, 2004), las cuales caracterizan a un sueño profundo y reparador; y debido a esto, la calidad subjetiva del sueño reportado por sujetos humanos con un patrón de consumo ocasional de alcohol es deficiente (Roehrs & Roth, 2015), por lo que reportan cansancio y somnolencia diurna, además de déficits en la memoria y en los niveles de atención (Givens, 1995), lo que a su vez supone un mayor riesgo de accidentes automovilísticos o de trabajo por hipersomnolencia (Filomeno *et al.*, 2019).

El ciclo sueño-vigilia es un fenómeno circadiano que está sujeto a la influencia de variables externas o *Zeitgebers* y a variables internas homeostáticas, lo que produce que oscile durante el día y la noche (Faure *et al.*, 1990). En el caso de las ratas, los ciclos sueño-vigilia oscilan varias veces durante el día debido a que son animales policíclicos (Blumberg *et al.*, 2005). Esta ciclicidad puede verse alterada tanto en la duración del sueño, como en su número de episodios por la disrupción de varios factores ambientales y homeostáticos como los son los horarios de luz y oscuridad, la exposición al estrés, la ingesta calórica y por supuesto, la ingesta de drogas como lo es el alcohol (Rosenwasser, 2015).

La duración del sueño se vio alterada mayoritariamente en la acrofase, es decir, el punto en el que la duración del sueño es máxima con respecto al tiempo circádico. En las ratas de ambas sublíneas, durante la primera ingesta exclusiva de alcohol (fase AL1) y después del periodo de libre elección al consumo de alcohol (fase AL2) se produjo un retraso del ciclo al haber diferencias significativas en la acrofase en la vigilia y el SOL, mientras que para el sueño MOR se obtuvo un retraso de la fase en ratas HY y un adelanto de la fase en las ratas LY bajo las condiciones tanto de la fase AL1 como de la fase AL2.

En condiciones control, las ratas LY no presentan un ritmo circadiano de la vigilia que se acople a la curva sinusoidal de la función COSINOR, lo cual indica una ausencia en el ritmo oscilatorio de la vigilia (véase Figura 37). Después de la ingesta de alcohol en las fases AL1 y AL2, se obtiene un ritmo

en la oscilación de la vigilia con un retraso de la acrofase de aproximadamente 2 horas (véase Figura 39).

Las oscilaciones de las funciones fisiológicas como el sueño, la temperatura corporal, la secreción de hormonas, la presión sanguínea y los procesos metabólicos son esenciales para un óptimo funcionamiento orgánico enfatados con las oscilaciones circádicas (Dibner *et al.*, 2010), y son producto de un asa de retroalimentación de transcripción-traslación de los genes reloj Clock, Bmal1, Per y Cry, el cual tiene una duración aproximada de 24 h, estableciendo así un ritmo circadiano (Guo *et al.*, 2016), el cual ocurre en las células de varios tejidos corporales. Estos relojes endógenos están controlados por el núcleo supraquiasmático, que se le ha denominado el reloj maestro, el cual también tiene un periodo ligeramente mayor a las 24 h, y por lo tanto, requiere de un ajuste diario para mantenerse sincronizado con el medio externo, (Dibner *et al.*, 2010), principalmente mediante la exposición a la luz (Lucas *et al.*, 2012), estableciendo así un ritmo circadiano. Los ritmos circadianos permiten que el organismo tenga un funcionamiento óptimo al anticipar cambios ambientales y ajustar su conducta y las funciones fisiológicas a estos cambios (Reppert & Weaver, 2002).

Existe una relación bidireccional entre los ritmos circadianos y la ingesta de alcohol, ya que el alcohol produce alteraciones en los procesos moleculares de los genes reloj para la generación de los ritmos y, por otra parte, los sujetos que presentan alteraciones previas de los ritmos circadianos son más susceptibles a desarrollar una dependencia al consumo de alcohol o a otras drogas adictivas, además de presentar hiperfagia y la ingesta de alimentos altos en calorías (Ahrens & Ahmed, 2020). Se ha reportado que la ingesta crónica de alcohol afecta al gen Per2, lo que produce un desfase en los ritmos de sueño, de la temperatura corporal y la secreción de hormonas (Damaggio & Gorman 2014); de igual manera, se ha reportado que en humanos y modelos animales como son la rata y el ratón que muestran una dependencia al alcohol presentan una mutación de este mismo gen, por lo tanto, se ha propuesto como un blanco molecular para la etiología del alcoholismo (Guo *et al.*, 2016) lo que muestra la estrecha relación de la cronobiología y los problemas de adicción. Adicionalmente, la desincronización de los ritmos circadianos actúa como un estresor crónico no específico, aminora la respuesta del eje HPA y reduce la secreción de CRF, la expresión de receptores a glucocorticoides y reduce la respuesta de la ACTH en la corteza adrenal (Trujillo *et al.*, 2011).

El consumo de alcohol altera directamente a la sincronización circadiana del ciclo sueño-vigilia (Ahrens & Ahmed, 2020). En ratas de la cepa Wistar, la ingesta crónica de alcohol a una

concentración del 10% en un protocolo de libre elección con acceso a agua purificada, produce un adelanto en la fase del sueño de ondas lentas y del sueño MOR, además de un acortamiento del ciclo sueño-vigilia bajo condiciones de libre corrimiento con luz u oscuridad continua (Rosenwasser *et al.*, 2005). Adicionalmente, las ratas expuestas a condiciones de luz u oscuridad continua expresan un libre corrimiento de sus ritmos, con duraciones que oscilan de 22 a 26 h, las cuales presentaron un incremento significativo en su ingesta de alcohol (Rosenwasser *et al.*, 2014). Por otra parte, Guo y colaboradores (2016) obtuvieron un adelanto de la acrofase en los ritmos circadianos de la temperatura corporal y de la actividad motora en un periodo de 24 h en ratas Wistar posterior a la ingesta crónica de alcohol (Guo *et al.*, 2016). Nuestros resultados muestran que en las ratas LY, el ritmo circadiano de duración de la vigilia, SOL y sueño MOR se vieron afectados en su acrofase, teniendo un retraso de la acrofase de la vigilia y del SOL, además de un adelanto de la acrofase del sueño MOR, lo cual coincide con lo reportado anteriormente.

En el caso de los humanos, la ingesta de una sola dosis de 6-8g/Kg de alcohol no produce un adelanto o retraso en la acrofase de la duración del SOL y sueño MOR (Burgess *et al.*, 2016). Sin embargo, se ha reportado que la ingesta crónica de alcohol produce un retraso en la fase de sueño, especialmente si el consumo de alcohol se lleva a cabo al final de la fase de luz (Adan, 1994). Además, la ingesta crónica de alcohol disminuye el ritmo de la temperatura corporal (Danel *et al.*, 2001), la secreción de cortisol y de testosterona en humanos saludables (Damaggio & Gorman 2014), lo cual se mantiene alterado incluso después de la suspensión de la ingesta de alcohol, y supone un riesgo para la recaída al consumo de alcohol (Brower, 2003; Damaggio & Gorman, 2014) tanto para humanos (Bertello *et al.*, 1982), como también en animales (Brager *et al.*, 2010). Por lo tanto, se ha demostrado que el alcohol afecta de manera importante los ritmos circadianos a través de la desincronización de relojes periféricos. Se han propuesto dos principales mecanismos fisiológicos para este proceso de desincronización, los cuales son los ritmos diurnos de la temperatura corporal y la actividad del eje HPA, en especial, la secreción de cortisol (Guo *et al.*, 2016). El NSQ regula las fluctuaciones diurnas de la temperatura a través de un mecanismo compensador, mientras que los relojes periféricos no tienen esta propiedad, de manera que la temperatura sirve como una señal muy importante de restablecimiento de los ritmos circadianos. Además, la temperatura corporal está estrechamente relacionada con los ritmos de la actividad locomotora, el ciclo sueño-vigilia y el metabolismo, de manera que la exposición crónica al alcohol produce una desincronización sistémica y puede producir un desfase de los diferentes ritmos de hasta 4 horas (Guo *et al.*, 2016). El segundo mecanismo de sincronización de ritmos circadiano es el

ritmo de la actividad del eje HPA y la secreción de cortisol y glucocorticoides, los cuales son importantes para la respuesta al estrés del organismo y es responsable de mantener un estado de alerta en la vigilia, regular la actividad locomotora, e incluso el desempeño en actividades cognitivas (Herman & Cullinan, 1997), y constituyen también un factor muy potente de sincronización de los relojes periféricos (Guo *et al.*, 2016).

En pacientes con depresión se ha reportado un acortamiento del ciclo del sueño y un retraso de la acrofase del sueño MOR, junto con una disminución en la latencia y una mayor duración del sueño MOR (Rosenwasser, 2015); lo cual también se ha descrito en las ratas FSL, las cuales han sido catalogadas como un modelo de depresión (Shiromani *et al.*, 1991). Esto soporta nuestros resultados de un desfase en la acrofase del sueño MOR en las ratas LY el cual no fue sincronizado a la fase de la condición control después de la ingesta de alcohol. No obtuvimos cambios en la duración del ciclo para el SOL ni el sueño MOR, ya que mantuvimos a las ratas en condiciones de luz-oscuridad 12:12, sin embargo, la ingesta de alcohol estableció un ritmo circadiano para la duración de la vigilia. Estos resultados junto con los obtenidos en nuestro laboratorio en los cuales se reporta que las ratas LY presentan una mayor inmovilidad en la prueba de nado forzado (Bravo Duran, 2020), lo cual se asocia a la depresión, soportan la hipótesis de que las ratas LY son un modelo de ansiedad y depresión.

Asimismo, se ha reportado que la ingesta de alcohol puede regular los ritmos de sueño en paradigmas de exposición voluntaria de alcohol empleando un protocolo de libre elección, y con soluciones de alcohol de <10% (Rosenwasser *et al.*, 2014). Sin embargo, los resultados suelen ser contradictorios, ya que bajo estos mismos parámetros se han reportado adelantos en la acrofase del sueño (Guo *et al.*, 2016), tal como ocurrió con las ratas HY, al ser estas resilientes y al tener menor respuesta de incrementos de corticosterona después de ser sometida a un estresor como lo es la restricción de movimientos (Fierro *et al.*, sometido a consideración editorial). Estos hallazgos implican que las sublíneas nos ofrecen modelos animales ideales para el estudio de las relaciones entre el genotipo que determina los fenotipos evaluados a través de despliegues conductuales específicos como son el bostezo, el aseo, la conducta de evitación, la exploración en un campo abierto, entre otros (Schmidt & Müller, 2006), y su despliegue de diferentes respuestas fisiológicas a lo largo del ritmo circadiano.

El efecto principal del consumo de alcohol crónico en el ritmo circadiano del ciclo sueño-vigilia es la desincronización de los ritmos fisiológicos y de los relojes moleculares periféricos, y es esta

desincronización en última instancia, la que también constituye un factor de riesgo para la recaída en el consumo de alcohol en sujetos alcohólicos recuperados (Brower *et al.*, 2001). La desincronización de los ritmos endógenos provocados por la ingesta crónica de alcohol es un aspecto que pasa desapercibido, sin embargo, es muy importante, ya que el funcionamiento óptimo del organismo depende de la sincronía de los ritmos endógenos y son fundamentales para un estado de bienestar y pueden ser también biomarcadores para estados patológicos.

Por lo tanto, el consumo crónico de alcohol produjo alteraciones en el ciclo sueño vigilia en ratas HY y LY, sin embargo, las ratas LY tuvieron mayores efectos de la ingesta de alcohol sobre su conducta evaluada en el laberinto en cruz elevado al inducir ansiólisis, y sobre su ciclo sueño-vigilia, al aumentar el SOL y sueño MOR, especialmente en la fase de oscuridad, además de que produjo un retraso en la acrofase del sueño MOR. Los resultados obtenidos en las ratas LY son consistentes en la literatura acerca de los efectos de la ingesta de alcohol sobre modelos animales con rasgos de alta ansiedad. En el caso de las ratas HY, los efectos que produjo el alcohol sobre su conducta evaluada en el laberinto en cruz elevado, en la duración total de las fases de sus ciclo sueño-vigilia, así como en los ritmos circadianos de sueño-vigilia no fueron significativos, lo que coincide con lo reportado en la literatura, que los sujetos resilientes tienen menos alteraciones después de la ingesta crónica de alcohol, además de que tienen la capacidad de regresar a los niveles basales después de la suspensión del consumo de alcohol.

11. Conclusiones

1. Las ratas LY consumieron significativamente más alcohol que las ratas HY.
2. El alcohol afecta el despliegue conductual en el laberinto en cruz elevado en las ratas LY, pero no en las HY.
3. La arquitectura del sueño se vio más afectada en las ratas LY que en las HY.
4. El análisis COSINOR mostró que las ratas LY no presentan un ritmo circadiano de la vigilia, pero la ingesta de alcohol produjo una sincronización de esta fase del ciclo sueño-vigilia.
5. Las ratas LY tuvieron una mayor duración de sueño MOR y un aumento de este después de la ingesta crónica de alcohol, junto con un retraso en la acrofase de aproximadamente 2 horas con respecto del ritmo circadiano del sueño MOR en condiciones control, lo que coincide con los signos reportados en sujetos con ansiedad.

6. Las ratas HY, al ser resilientes, mostraron menos alteraciones en su conducta evaluada en el laberinto en cruz elevado, en la duración de su ciclo sueño-vigilia, y una menor afectación a sus ritmos circadianos de sueño-vigilia.

12. Referencias

- Abbott, N.J., Pizzo, M.E., Preston, J.E., Janigro, D. and Thorne, R.G. (2018). The role of brain barriers in fluid movement in the CNS: is there a 'glymphatic' system? *Acta Neuropathologica* **135**:387–407.
- Abraham, K.P., Salinas, A.G., Lovinger, D.M., (2017). Alcohol and the brain: Neuronal molecular targets, synapses, and circuits. *Neuron* **96**: 1223–1238.
- Adam, K. (1980). Sleep as a restorative process and a theory to explain why, En *Progress in Brain Research*. Edición por McConnell, P.S., Romijn, H.J., Van De Poll, N.E. and Corner, M.A. Elsevier, 289–305.
- Adan, A. (1994). Chronotype and personality factors in the daily consumption of alcohol and psychostimulants. *Addiction*, **89**:455–462.
- Adinoff, B. (2004). Neurobiologic Processes in Drug Reward and Addiction. *Harvard Review of Psychiatry*, **12**:305–320.
- Aghajanian, G.K., Wang, R.Y., & Baraban, J. (1978). Serotonergic and non-serotonergic neurons of the dorsal raphe: reciprocal changes in firing induced by peripheral nerve stimulation. *Brain Research*, **153**:169–175.
- Ahrens, A.M. y Ahmed, O.J. (2020). Neural circuits linking sleep and addiction: Animal models to understand why select individuals are more vulnerable to substance use disorders after sleep deprivation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **108**:435-444.
- Alvaro, P.K., Roberts, R.M., Harris, J.K. (2013). A Systematic Review Assessing Bidirectionality between Sleep Disturbances, Anxiety and Depression. *Sleep*, **36**:1059–1068.
- American Psychiatric Association, (2014). Trastorno de ansiedad generalizada. En *Manual Diagnóstico y Estadístico de Los Trastornos Mentales*. Editorial Médica Panamericana pp. 191–192.
- Anderson, D.J., Noyes, Jr., Crowe, R.R., (1984). A comparison of panic disorder and generalized anxiety disorder. *American Journal of Psychiatry*, **141**:572–575.
- Antai, D., Lopez, G.B., Antai, J. and Anthony, D.S. (2014). Alcohol Drinking Patterns and Differences in Alcohol-Related Harm: A Population-Based Study of the United States. *BioMed Research International*, **2014**:e853410.
- Arnaiz, G.R. de L. and Antonelli, M.C. (2016). In Search of Concomitant Alterations of Dopaminergic and Neurotensinergic Systems in Stress Conditions. *Neurochemical Research*, **41**:423–430.

- Aston-Jones, G., Bloom, F.E. (1981). Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *Journal of Neuroscience*, **1**:876–886.
- Aston-Jones, G., Ennis, M., Pieribone, V.A., Nickell, W.T., Shipley, M.T. (1986). The Brain nucleus locus coeruleus: Restricted afferent control of a broad efferent network. *Science*, **234**:734–737.
- Badishtov, B.A., Overstreet, D.H., Kashevskaya, O.P., Viglinskaya, I.V., Kampov-Polevoy, A.B., Seredenin, S.B. y Halikas, J.A. (1995). To drink or not to drink: Open field behavior in alcohol-preferring and-nonpreferring rat strains. *Physiology & Behavior* **57**:585-589.
- Bayer, L., Eggermann, E., Serafin, M., Saint-Mleux, B., Machard, D., Jones, B., Mühlethaler, M. (2001). Orexins (hypocretins) directly excite tuberomammillary neurons. *European Journal of Neuroscience*, **14**:1571–1575.
- Becker, H.C. (2009). Alcohol dependence, withdrawal, and relapse. *Alcohol Research and Health*, **31**:348–361.
- Beleslin, D.B., DjokanoviΔ, N., JovanoviΔ-MiΔiΔ, D. and SamardæiΔ, R. (1997). Opposite effects of GABA_A and NMDA receptor antagonists on ethanol-induced behavioral sleep in rats. *Alcohol*, **14**:167–173.
- Belknap, J.K. y Deutsch, C.K. (1982). Differential neurosensitivity to three alcohols and phenobarbital in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Behavior Genetics*, **12**:309-317.
- Bell, R.L., Sable, H.J.K., Colombo, G., Hyytia, P., Rodd, Z.A., Lumeng, L. (2012). Animal models for medications development targeting alcohol abuse using selectively bred rat lines: Neurobiological and pharmacological validity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **103**:119–155.
- Benca, R.M., Overstreet, D.E., Gilliland, M.A., Russell, D., Bergmann, B.M. y Obermeyer, W.H. (1996). Increased basal rem sleep but no difference in dark induction or light suppression of REM sleep in Flinders rats with cholinergic supersensitivity. *Neuropsychopharmacology*, **15**:45-51.
- Berenzon Gorn, S., Saavedra Solano, N., Icaza, M.M., Elena, M., Aparicio Basaurí, V., Galván Reyes, J. (2013). Evaluation of the mental health system in Mexico: where is it headed? *Revista Panamericana de Salud Pública*, **33**:252–258.
- Berry, R.B., Brooks, R., Gamaldo, C., Harding, S.M., Lloyd, R.M., Quan, S.F., Troester, M.T., Vaughn, B.V. (2017). *The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications*. 2.4. ed. American Academy of Sleep Medicine, Darien, IL, USA.
- Bertello, P., Agrimonti, F., Gurioli, L., Frairia, R., Fornaro, D. and Angeli, A. (1982). Circadian Patterns of Plasma Cortisol and Testosterone in Chronic Male Alcoholics. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **6**:475–481.
- Blokland, A., Prickaerts, J. and Raaijmakers, W. (1992). Reduced level of anxiety in adult Lewis rats after chronic ethanol consumption. *Physiology & Behavior*, **51**:245–248.

- Blumberg, M.S., Seelke, A.M.H., Lowen, S.B. y Karlsson, K.Æ. (2005). Dynamics of sleep-wake cyclicity in developing rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**:14860-14864.
- Boulton, A.A., Barker, G.B., Wu, P.H. (1992). *Animal Models of Drug Addiction, Neuromethods*. Humana Press, Totowa, New Jersey.
- Bravo-Durán, A.D. (2020). Evaluación de la depresión en ratas de alto y bajo bostezo. Rol de los inhibidores de la recaptura de serotonina. Maestría, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Brager, A.J., Ruby, C.L., Prosser, R.A. and Glass, J.D. (2010). Chronic Ethanol Disrupts Circadian Photic Entrainment and Daily Locomotor Activity in the Mouse. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **34**:1266–1273.
- Bremner, J.D., Krystal, J.H., Southwick, S.M. and Charney, D.S. (1996). Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies. *Synapse*, (New York, N.Y.) **23**:28–38.
- Bystritsky, A., Khalsa, S.S., Cameron, M.E. and Schiffman, J. (2013). Current Diagnosis and Treatment of Anxiety Disorders. *Pharmacy and Therapeutics*, **38**:30–57.
- Brodie, M.S., Shefner, S.A. y Dunwiddie, T.V. (1990). Ethanol increases the firing rate of dopamine neurons of the rat ventral tegmental area in vitro. *Brain Research*, **508**:65-69.
- Brower, K.J. (2015). Assessment and treatment of insomnia in adult patients with alcohol use disorders. *Alcohol*, **49**:417–427.
- Brower, K.J., Aldrich, M.S., Robinson, E.A.R., Zucker, R.A., Greden, J.F. (2001). Insomnia, self-medication, and relapse to alcoholism. *The American Journal of Psychiatry*, **158**:399–404.
- Brower, K.J. (2003). Insomnia, alcoholism and relapse. *Sleep Medicine Reviews*, **7**:523–539.
- Brown, R.E., Basheer, R., McKenna, J.T., Strecker, R.E., McCarley, R.W. (2012). Control of sleep and wakefulness. *Physiological Reviews*, **92**:1087–1187.
- Brunell, S.C. y Spear, L.P. (2005). Effect of Stress on the Voluntary Intake of a Sweetened Ethanol Solution in Pair-Housed Adolescent and Adult Rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **29**:1641-1653.
- Burgess, H.J., Rizvydeen, M., Fogg, L.F. and Keshavarzian, A. (2016). A single dose of alcohol does not meaningfully alter circadian phase advances and phase delays to light in humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **310**:759–765.
- Carobrez, A.P. and Bertoglio, L.J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **29**:1193–1205.
- Chand, S.P. (2015). Comorbid insomnia and cognitive behavior therapy. *International Journal of Psychiatry in Medicine*, **50**:412–421.

- Chan, J.K.M., Trinder, J., Colrain, I.M., Nicholas, C.L. (2015). The acute effects of alcohol on sleep electroencephalogram power spectra in late adolescence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **39**:291-299.
- Chaouloff, F., Kulikov, A., Sarrieau, A., Castanon, N. and Mormède, P. (1995). Male Fischer 344 and Lewis rats display differences in locomotor reactivity, but not in anxiety-related behaviours: relationship with the hippocampal serotonergic system. *Brain Research*, **693**:169–178.
- Cheeta, S., Ruigt, G., van Proosdij, J., & Willner, P. (1997). Changes in sleep architecture following chronic mild stress. *Biological Psychiatry*, **41**:419–427.
- Chokroverty, S. (2011). Características generales del sueño normal. En *Medicina de los trastornos del sueño: Aspectos básicos, consideraciones técnicas y aplicaciones clínicas*. Elsevier Inc., pp. 19–36.
- Chorpita, B.F. and Barlow, D.H. (1998). The development of anxiety: the role of control in the early environment. *Psychological Bulletin*, **124**:3–21.
- Chrousos, G.P., (2009). Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology*, **5**:374–381.
- Chueh, K.-H., Guilleminault, C. and Lin, C.M. (2019). Alcohol Consumption as a Moderator of Anxiety and Sleep Quality. *The Journal of Nursing Research*, **27**:e23.
- Collins, G.T., Eguibar, J.R., (2010). *Neuropharmacology of Yawning*, **28**:90–106.
- Colrain, I.M., Nicholas, C.L. and Baker, F.C. (2014). Alcohol and the sleeping brain. *Handbook of Clinical Neurology*, **125**:415–431.
- Connor, J.P., Haber, P.S., Hall, W.D. (2015). Alcohol use disorders. *The Lancet*, **387**:988-998.
- Conroy, D.A., & Arnedt, J.T. (2014). Sleep and Substance Use Disorders: An Update. *Current Psychiatry Reports*, **16**:1–9.
- Cox, R.C., Olatunji, B.O. (2016). A systematic review of sleep disturbance in anxiety and related disorders. *Journal of Anxiety Disorders*, **37**:104–129.
- Cruz, A.P.M., Frei, F. and Graeff, G. (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **49**:171–176.
- Dallman, M.F. (2007). Modulation of stress responses: How we cope with excess glucocorticoids. *Experimental Neurology* **206**:179–182.
- Damaggio, A.S. and Gorman, M.R. (2014). The circadian timing system in ethanol consumption and dependence. *Behavioral Neuroscience*, **128**:371–386.
- Danel, T., Libersa, C. and Touitou, Y. (2001). The effect of alcohol consumption on the circadian control of human core body temperature is time dependent. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **281**: R52-55.
- Darcq, E., Kieffer, B. (2018). Opioid receptors: drivers to addiction? *Nature Reviews Neuroscience*, **19**:499.

- Datta, S., MacLean, R.R. (2007). Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep–wake behavior: Reinterpretation of historical evidence and inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **31**:775–824.
- Datta, S., Kumar, V.M., Singh, C., Singh, B. (1987). Effect of application of serotonin in medial preoptic area on body temperature and sleep-wakefulness. *Indian Journal of Experimental Biology*, **25**:681–685.
- Daszuta, A., Gambarelli, F. and Ternaux, J.P. (1983). Sleep variations in C57BL and BALBc mice from 3 weeks to 14 weeks of age. *Developmental Brain Research* **7**:87–96.
- Delius, J.D. (1988). Preening and Associated Comfort Behavior in Birds. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **525**:40-55.
- Diamond, I., Gordon, A.S. (1997). Cellular and molecular neuroscience of alcoholism. *Physiological Reviews*, **77**:1–20.
- Dias, B.G., Banerjee, S.B., Goodman, J.V. and Ressler, K.J. (2013). Towards new approaches to disorders of fear and anxiety. *Current opinion in neurobiology*, **23**:346–352.
- Dibner, C., Schibler, U. and Albrecht, U. (2010). The Mammalian Circadian Timing System: Organization and Coordination of Central and Peripheral Clocks. *Annual Review of Physiology*, **72**:517–549.
- Dickerson, S.S. and Kemeny, M.E. (2004). Acute stressors and cortisol responses: A theoretical integration and synthesis of laboratory research. *Psychological Bulletin*, **130**:355–391.
- Dijk, D.J. (2013). Homeostatic and Circadian Influences. En *Encyclopedia of Sleep* Edición por Kushida, C. A. Waltham: Academic Press, pp. 213–216.
- Dodd, P.R., Beckmann, A.M., Davidson, M.S., Wilce, P.A. (2000). Glutamate-mediated transmission, alcohol, and alcoholism. *Neurochemistry International*, **37**:509–533.
- Doremus, T.L., Varlinskaya, E.I. y Spear, L.P. (2006). Factor analysis of elevated plus-maze behavior in adolescent and adult rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, **83**:570-577.
- Duval, F., González, F., Rabia, H., (2010). Neurobiología del estrés. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, **48**:307–318.
- Ebrahim, I.O., Shapiro, C.M., Williams, A.J., Fenwick, P.B. (2013). Alcohol and Sleep I: Effects on Normal Sleep. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **37**:539-549.
- Eguibar, J.R., Moyaho, A., (1997). Inhibition of Grooming by Pilocarpine Differs in High- and Low-Yawning Sublines of Sprague–Dawley Rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **58**:317–322.
- Ehlers, C.L., Slawecki, C.J., (2000). Effects of chronic ethanol exposure on sleep in rats. *Alcohol*, **20**:173–179.
- Encuesta Nacional de Adicciones (2011) (Ed.), n.d. Consumo de alcohol: Prevalencias globales, patrones de consumo y variaciones regionales.

- Erdozain, A.M., Callado, L.F. (2014). Alteraciones neurobiológicas en el alcoholismo: revisión. *Adicciones*, **26**:360–370.
- Esch, T., Stefano, G.B. (2004). The neurobiology of pleasure, reward processes, addiction and their health implications. *Neuro Endocrinology Letters*, **25**:235–251.
- Estanislau, C. (2012). Cues to the usefulness of grooming behavior in the evaluation of anxiety in the elevated plus-maze. *Psychology & Neuroscience* **5**:105.
- Fahlke, C., Engel, J.A., Peter Eriksson, C.J., Härd, E. y Söderpalm, B. (1994). Involvement of corticosterone in the modulation of ethanol consumption in the rat. *Alcohol*, **11**:195-202.
- Faingold, C.L. (2008). The Majchrowicz Binge Alcohol Protocol: An Intubation Technique to Study Alcohol Dependence in Rats. *Current Protocols in Neuroscience*, **44**:9.28.1-9.28.12.
- Faure, A., Nemoz, C. and Claustrat, B. (1990). A graphical and statistical method for investigation of time series in chronobiology according to the cosinor procedure. *Computers in Biology and Medicine*, **20**:319–329.
- Ferrara, M. and De Gennaro, L. (2001). How much sleep do we need? *Sleep Medicine Reviews*, **5**:155–179.
- Fernández, M.S., Fabio, M.C., Miranda-Morales, R.S., Virgolini, M.B., De Giovanni, L.N., Hansen, C., ... Pautassi, R.M. (2016). Age-related effects of chronic restraint stress on ethanol drinking, ethanol-induced sedation, and on basal and stress-induced anxiety response. *Alcohol*, **51**:89–100.
- Fibiger, H.C. (1991). Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends in Neurosciences*, **14**:220–223.
- Filomeno, R., Ikeda, A., Maruyama, K., Wada, H. and Tanigawa, T. (2019). Excessive daytime sleepiness and alcohol consumption among commercial drivers. *Occupational Medicine* (Oxford, England), **69**: 406–411.
- Fierro Rojas, A. (2017). Efectos del estrés agudo sobre el ciclo sueño-vigilia en un modelo de ansiedad (Licenciatura). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
- Filomeno, R., Ikeda, A., Maruyama, K., Wada, H. and Tanigawa, T. (2019). Excessive daytime sleepiness and alcohol consumption among commercial drivers. *Occupational Medicine* (Oxford, England), **69**:406–411.
- Galandra, C., Basso, G., Cappa, S. and Canessa, N. (2018). The alcoholic brain: neural bases of impaired reward-based decision-making in alcohol use disorders. *Neurological Sciences*, **39**:423–435.
- Gann, H., van Calker, D., Feige, B., Cloot, O., Brück, R., Berger, M. and Riemann, D. (2004). Polysomnographic comparison between patients with primary alcohol dependency during subacute withdrawal and patients with a major depression. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, **254**:263–271.

- Garcia, A.N., Salloum, I.M., (2015). Polysomnographic sleep disturbances in nicotine, caffeine, alcohol, cocaine, opioid, and cannabis use: A focused review. *The American Journal on Addictions*, **24**:590–598.
- García, A., Martíá, O., Vallès, A., Dal-Zotto, S. and Armario, A. (2000). Recovery of the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress: Effect of stress intensity, stress duration and previous stress exposure. *Neuroendocrinology*, **72**:114–125.
- Gianoulakis, C. (2009). Endogenous Opioids and Addiction to Alcohol and other Drugs of Abuse. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **9**:1–17.
- Giorgi, O., Piras, G. and Corda, M.G. (2007). The psychogenetically selected Roman high- and low-avoidance rat lines: A model to study the individual vulnerability to drug addiction. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **31**: 148–163.
- Giuditta, A., Ambrosini, M.V., Montagnese, P., Mandile, P., Cotugno, M., Zucconi, G.G., Vescia, S. (1995). The sequential hypothesis of the function of sleep. *Behavioural Brain Research*, **69**:157–166.
- Givens, B., McMahon, K. (1995). Ethanol suppresses the induction of long-term potentiation in vivo. *Brain Research*, **688**:27–33.
- Global status report on alcohol and health, (2018). World Health Organization.
- Gomez, R.G., Posener, J.A., Keller, J., DeBattista, C., Solvason, B., Schatzberg, A.F. (2009). Effects of major depression diagnosis and cortisol levels on indices of neurocognitive function. *Psychoneuroendocrinology*, **34**:1012–1018
- Godoy, L.D., Rossignoli, M.T., Delfino-Pereira, P., Garcia-Cairasco, N., Umeoka, de L. and Henrique, E. (2018). A Comprehensive Overview on Stress Neurobiology: Basic Concepts and Clinical Implications. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, **12**.
- Gottesmann, C. (2002). GABA mechanisms and sleep. *Neuroscience*, **111**:231–239.
- Gottesmann, C. (1992). Detection of seven sleep-waking stages in the rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **16**:31–38.
- Grissom, N., Kerr, W. and Bhatnagar, S. (2008). Struggling behavior during restraint is regulated by stress experience. *Behavioural Brain Research*, **191**:219–226.
- Grobin, A.C., Matthews, D.B., Devaud, L.L., Morrow, A.L. (1998). The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol. *Psychopharmacology*, **139**:2–19.
- Guerrero-Zúñiga, S., Gaona-Pineda, E.B., Cuevas-Nasu, L., Torre-Bouscoulet, L., Reyes-Zúñiga, M., Shamah-Levy, T., Pérez-Padilla, R. (2018). Prevalencia de síntomas de sueño y riesgo de apnea obstructiva del sueño en México. *Salud Pública de México*, **60**:347–355.
- Guo, R., Simasko, S.M. and Jansen, H.T. (2016). Chronic Alcohol Consumption in Rats Leads to Desynchrony in Diurnal Rhythms and Molecular Clocks. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **40**:291–300.

Hablitz, L.M., Vinitsky, H.S., Sun, Q., Stæger, F.F., Sigurdsson, B., Mortensen, K.N., ... Nedergaard, M. (2019). Increased glymphatic influx is correlated with high EEG delta power and low heart rate in mice under anesthesia. *Science Advances* **5**:eaav5447.

Harrison, Y., Horne, J.A. (2000). The impact of sleep deprivation on decision making: a review. *Journal of Experimental Psychology: Applied*, **6**:236–249.

Hauglund, N.L., Pavan, C. and Nedergaard, M. (2020). Cleaning the sleeping brain – the potential restorative function of the glymphatic system. *Current Opinion in Physiology* **15**:1–6.

Heilig, M., Koob, G.F. (2007). A key role for corticotropin-releasing factor in alcohol dependence. *Trends in Neurosciences*, **30**:399–406.

Henniger, M.S.H., Spanagel, R., Wigger, A., Landgraf, R. and Höltter, S.M. (2002). Alcohol Self-administration in Two Rat Lines Selectively Bred for Extremes in Anxiety-related Behavior. *Neuropsychopharmacology*, **26**:729–736.

Herring, M.P., Kline, C.E., O'Connor, P.J. (2015). Effects of Exercise on Sleep Among Young Women With Generalized Anxiety Disorder. *Mental Health and Physical Activity*, **9**:59–66.

Herman, J.P. and Cullinan, W.E. (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo–pituitary–adrenocortical axis. *Trends in Neurosciences*, **20**:78–84.

Hill, S.Y. and Reyes, R.B. (1978). Effects of chronic and acute ethanol administration on sleep in laboratory rats. *Journal of Studies on Alcohol*, **39**:47–55.

Hobson, J.A., McCarley, R.W., Wyzinski, P.W. (1975). Sleep cycle oscillation: Reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science*, **189**:55–58.

Horii, Y. y Kawaguchi, M. (2015). Higher detection sensitivity of anxiolytic effects of diazepam by ledge-free open arm with opaque walled closed arm elevated plus maze in male rats. *Behavioural Brain Research*, **294**:131-140.

Iloff, J.J., Wang, M., Liao, Y., Plogg, B.A., Peng, W., Gundersen, G.A., ... Nedergaard, M. (2012). A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid β . *Science Translational Medicine* **4**:147ra111-147ra111.

Jadhav, K.S., Magistretti, P.J., Halfon, O., Augsburg, M. and Boutrel, B. (2017). A preclinical model for identifying rats at risk of alcohol use disorder. *Scientific Reports* **7**:1–10.

Jean Kant, G., Pastel, R.H., Bauman, R.A., Meininger, G.R., Maughan, K.R., Robinson III, T.N., ... Covington, P.S. (1995). Effects of chronic stress on sleep in rats. *Physiology & Behavior*, **57**:359–365.

John, J., Kumar, V.M., Gopinath, G., Ramesh, V., Mallick, H. (1994). Changes in Sleep-Wakefulness after Kainic Acid Lesion of the Preoptic Area in Rats. *The Japanese Journal of Physiology*, **44**:231–242.

Jones, B.E. (2018). The mysteries of sleep and waking unveiled by Michel Jouvet. *Sleep Medicine*, **49**:14–19.

- Kaehler, S.T., Singewald, N., Sinner, C., Thurnher, C., Philippu, A., (2000). Conditioned fear and inescapable shock modify the release of serotonin in the locus coeruleus. *Brain Research*, **859**:249–254.
- Kaneita, Y., Yokoyama, E., Harano, S., Tamaki, T., Suzuki, H., Munezawa, T., ... Ohida, T. (2009). Associations between sleep disturbance and mental health status: A longitudinal study of Japanese junior high school students. *Sleep Medicine*, **10**:780–786.
- Kandel, E.R. (2001). Sueño y ensoñación. En *Principios de Neurociencias*. McGraw Hill, España, pp. 936–948.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M., (2001). Trastornos del estado de ánimo: depresión, manía y trastornos de ansiedad. En *Principios de Neurociencia*. McGraw Hill, España, pp. 1209–1227.
- Keyes, K.M., Hatzenbuehler, M.L. and Hasin, D.S. (2011). Stressful life experiences, alcohol consumption, and alcohol use disorders: the epidemiologic evidence for four main types of stressors. *Psychopharmacology*, **218**:1–17.
- Koolhaas, J.M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., de Boer, S.F., Flügge, G., Korte, S.M., Meerlo, P., Murison, R., Olivier, B., Palanza, P., Richter-Levin, G., Sgoifo, A., Steimer, T., Stiedl, O., van Dijk, G., Wöhr, M., Fuchs, E., (2011). Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **35**:1291–1301.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., ... Blokhuis, H.J. (1999). Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **23**:925–935.
- Koob, G.F. (2014). Chapter 3 - Neurocircuitry of alcohol addiction: synthesis from animal models. En *Handbook of Clinical Neurology, Alcohol and the Nervous System*. Sullivan, E.V., Pfefferbaum, A. Elsevier, pp. 33–54.
- Kubota, T., De, A., Brown, R.A., Simasko, S.M., Krueger, J.M. (2002). Diurnal Effects of Acute and Chronic Administration of Ethanol on Sleep in Rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **26**:1153–1161.
- Kumar, S., Porcu, P., Werner, D.F., Matthews, D.B., Diaz-Granados, J.L., Helfand, R.S., Morrow, A.L. (2009). The role of GABA_A receptors in the acute and chronic effects of ethanol: a decade of progress. *Psychopharmacology*, **205**:529–564.
- Kushner, M.G., Abrams, K., Borchardt, C. (2000). The relationship between anxiety disorders and alcohol use disorders: A review of major perspectives and findings. *Clinical Psychology Review*, **20**:149–171.
- Lalonde, R. y Strazielle, C. (2012). Relations between open-field, elevated plus-maze, and emergence tests in C57BL/6Jlco and BALB/cAnN@lco mice injected with ethanol. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **26**:271-278.
- Langen, B. and Fink, H. (2004). Anxiety as a predictor of alcohol preference in rats? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **28**:961–968.

- Landgraf, R. y Wigger, A. (2002). High vs Low Anxiety-Related Behavior Rats: An Animal Model of Extremes in Trait Anxiety. *Behavior Genetics*, **32**:301-314.
- Landfume, L. (2008). Corticosteroid-serotonin interactions in the neurobiological mechanisms of stress-related disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **32**:1174-1184.
- Lee-Chiong, T. (2008). *Sleep Medicine: Essentials and Review*. Oxford University Press, New York.
- Lester, D. y Freed, E.X. (1973). Criteria for an animal model of alcoholism. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **1**:103-107.
- Lieber, C.S. (1984). Metabolism and Metabolic Effects of Alcohol. *Medical Clinics of North America*, **68**:3-31.
- Lucas, R.J., Lall, G.S., Allen, A.E. and Brown, T.M. (2012). Chapter 1 - How rod, cone, and melanopsin photoreceptors come together to enlighten the mammalian circadian clock. En *Progress in Brain Research*. Kalsbeek, A., Mellow, M., Roenneberg, T. and Foster, R. G. Elsevier, pp. 1-18.
- MacLean, R.R. and Datta, S. (2007). The relationship between anxiety and sleep-wake behavior after stressor exposure in the rat. *Brain Research*, **1164**:72-80.
- MacLean, A.W. and Cairns, J. (1982). Dose-response effects of ethanol on the sleep of young men. *Journal of Studies on Alcohol*, **43**:434-444.
- Manzanares, J., Cabañero, D., Puente, N., García-Gutiérrez, M.S., Grandes, P., & Maldonado, R. (2018). Role of the endocannabinoid system in drug addiction. *Biochemical Pharmacology*, **157**:108-121.
- Manzo, L., Gómez, M.J., Callejas-Aguilera, J.E., Fernández-Teruel, A., Papini, M.R. and Torres, C. (2012). Oral ethanol self-administration in inbred Roman high- and low-avoidance rats: gradual versus abrupt ethanol presentation. *Physiology & Behavior*, **108**:1-5.
- Marinesco, S., Bonnet, C., Cespuoglio, R. (1999). Influence of stress duration on the sleep rebound induced by immobilization in the rat: a possible role for corticosterone. *Neuroscience*, **92**:921-933.
- Martínez-González, D., Prospéro-García, O., Mihailescu, S. and Drucker-Colín, R. (2002). Effects of nicotine on alcohol intake in a rat model of depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **72**:355-364.
- McBride, W.J. y Li, T.-K. (1998). Animal Models of Alcoholism: Neurobiology of High Alcohol-Drinking Behavior in Rodents. *Critical Reviews & Trade; in Neurobiology*, **12**.
- McCarley, R.W., (2007). Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Medicine, Advances in Sleep Medicine*, **8**:302-330.
- McClelland, P. and Dobson, A.J. (1997). How much alcohol and how often? Population based case-control study of alcohol consumption and risk of a major coronary event. *BMJ*, **314**:1159.
- McEwen, B.S., & Karatsoreos, I.N. (2015). Sleep Deprivation and Circadian Disruption: Stress, Allostasis, and Allostatic Load. *Sleep Medicine Clinics*, **10**:1-10.

- McEwen BS, Stellar E. (1993). Stress and the individual: Mechanisms leading to disease. *Archives of Internal Medicine*, **153**:2093–2101.
- Medina-Mora, M.E., Borges, G., Muñoz, C.L., Benjet, C., Jaimes, J.B., Bautista, C.F., ... Aguilar-Gaxiola, S. (2003). Prevalencia de Trastornos Mentales y Uso de Servicios: Resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. *Salud Mental*, **26**:1–16.
- Mendelson, W.B., Hill, S.Y. (1978). Effects of the acute administration of ethanol on the sleep of the rat: A dose-response study. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **8**:723–726.
- Millan, M.J. (2003). The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology*, **70**:83–244.
- Momeni, S. and Roman, E. (2014). Subgroup-dependent effects of voluntary alcohol intake on behavioral profiles in outbred Wistar rats. *Behavioural Brain Research* **275**:288–296.
- Moonat, S., Starkman, B.G., Sakharkar, A., Pandey, S.C. (2010). Neuroscience of alcoholism: molecular and cellular mechanisms. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **67**:73–88.
- Moussas, G., Christodoulou, C., Douzenis, A. (2009). A short review on the aetiology and pathophysiology of alcoholism. *Annals of General Psychiatry*, **8**:10.
- Moyaho, A., Eguibar, J.R. and Diaz, J.L. (1995). Induced grooming transitions and open field behaviour differ in high- and low-yawning sublines of Sprague-Dawley rats. *Animal Behaviour*, **50**:61–72.
- Mukherjee, S., Kazerooni, M., Simasko, S.M. (2008). Dose–response study of chronic alcohol induced changes in sleep patterns in rats. *Brain Research*, **1208**:120–127.
- Nagy, L.E. (2008). *Alcohol: Methods and Protocols*. Cleveland, OH, USA: Humana Press.
- Nieoullon, A. and Coquerel, A. (2003). Dopamine: a key regulator to adapt action, emotion, motivation and cognition. *Current Opinion in Neurology* **16**:S3.
- Nicolau, M.C., Akaâr, M., Gamundí, A., González, J. and Rial, R.V. (2000). Why we sleep: the evolutionary pathway to the mammalian sleep. *Progress in Neurobiology*, **62**:379–406.
- Noyes, R. (2001). Comorbidity in Generalized Anxiety Disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, **24**:41–55.
- Oficina de Información Científica y Tecnológica para el Congreso de la Unión. (2018). Salud Mental en México. Nota-INCyTU.
- Ohl, F. (2003). Testing for anxiety. *Clinical Neuroscience Research*, **3**:233–238.
- Omisade, A., Buxton, O.M., Rusak, B. (2010). Impact of acute sleep restriction on cortisol and leptin levels in young women. *Physiology & Behavior*, **99**:651–656.
- Opp, M.R. (1997). Rat strain differences suggest a role for corticotropin-releasing hormone in modulating sleep. *Physiology & Behavior*, **63**:67–74.

- Overstreet, D.H. (1993). The flinders sensitive line rats: A genetic animal model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **17**:51–68.
- Overstreet, D.H., Kampov-Polevoy, A.B., Rezvani, A.H., Murrelle, L., Halikas, J.A. and Janowsky, D.S. (1993). Saccharin Intake Predicts Ethanol Intake in Genetically Heterogeneous Rats as Well as Different Rat Strains. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **17**:366–369.
- Overstreet, D.H., Rezvani, A.H. and Janowsky, D.S. (1992). Genetic animal models of depression and ethanol preference provide support for cholinergic and serotonergic involvement in depression and alcoholism. *Biological Psychiatry*, **31**: 919–936.
- Overstreet, D.H., Rezvani, A.H. and Janowsky, D.S. (1990). Increased hypothermic responses to ethanol in rats selectively bred for cholinergic supersensitivity. *Alcohol and Alcoholism* **25**:59–65.
- Pani, L., Porcella, A. and Gessa, G.L. (2000). The role of stress in the pathophysiology of the dopaminergic system. *Molecular Psychiatry*, **5**:14–21.
- Pawlyk, A.C., Morrison, A.R., Ross, R.J., Brennan, F.X. (2008). Stress-Induced Changes in Sleep in Rodents: Models and Mechanisms. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **32**:99–117.
- Pucilowski, O., Overstreet, D.H., Rezvani, A.H. y Janowsky, D.S. (1993). Chronic mild stress-induced anhedonia: greater effect in a genetic rat model of depression. *Physiology & Behavior*, **54**:1215–1220.
- Radley, J.J., Kabbaj, M., Jacobson, L., Heydendael, W., Yehuda, R. and Herman, J.P. (2011). Stress risk factors and stress-related pathology: Neuroplasticity, epigenetics and endophenotypes. *Stress*, **14**:481–497.
- Rains, G.D. (2004). Trastornos de Ansiedad. En *Principios de Neuropsicología Humana*. McGraw Hill Interamericana. México, pp. 381–382.
- Rampin, C., Cespuglio, R., Chastrette, N., Jouvet, M., (1991). Immobilisation Stress Induces a Paradoxical Sleep Rebound in Rat. *Neuroscience Letters*, **126**:113–118.
- Ramsawh, H.J., Stein, M.B., Belik, S.L., Jacobi, F., Sareen, J. (2009). Relationship of anxiety disorders, sleep quality, and functional impairment in a community sample. *Journal of Psychiatric Research*, **43**:926–933.
- Rasheed, N. and Alghasham, A. (2012). Central Dopaminergic System and Its Implications in Stress-Mediated Neurological Disorders and Gastric Ulcers: Short Review. *Advances in Pharmacological Sciences*, **2012**:e182671.
- Reppert, S.M. and Weaver, D.R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, **418**:935–941.
- Richter, R.M., Zorrilla, E.P., Basso, A.M., Koob, G.F. and Weiss, F. (2000). Altered Amygdalar CRF Release and Increased Anxiety-Like Behavior in Sardinian Alcohol-Preferring Rats: A Microdialysis and Behavioral Study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **24**:1765–1772.
- Roeckner, A.R., Bowling, A. and Butler, T.R. (2017). Chronic social instability increases anxiety-like behavior and ethanol preference in male Long Evans rats. *Physiology & Behavior* **173**:179–187.

- Roehrs, T., & Roth, T. (2018). Insomnia as a path to alcoholism: tolerance development and dose escalation. *Sleep*, **41**:1-5.
- Roehrs, T.A. and Roth, T. (2015). Sleep Disturbance in Substance Use Disorders. *Psychiatric Clinics of North America*, **38**:793–803.
- Rodgers, R.J. and Dalvi, A. (1997). Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **21**:801–810.
- Rosenwasser, A.M. (2015). Sleep, circadian rhythms and alcohol: Introduction and overview. *Alcohol*, **49**:297.
- Rosenwasser, A.M., McCulley III, W.D. y Fecteau, M. (2014). Circadian activity rhythms and voluntary ethanol intake in male and female ethanol-preferring rats: Effects of long-term ethanol access. *Alcohol*, **48**:647-655.
- Rosenwasser, A.M., Fecteau, M.E. y Logan, R.W. (2005). Effects of ethanol intake and ethanol withdrawal on free-running circadian activity rhythms in rats. *Physiology & Behavior*, **84**:537-542.
- Salomé, N., Landgraf, R. y Viltart, O. (2006). Confinement to the open arm of the elevated-plus maze as anxiety paradigm: behavioral validation. *Behavioral Neuroscience*, **120**:719-723.
- Sandi, C., Borrell, J., Guaza, C. (1990). Enkephalins interfere with early phases of voluntary ethanol drinking. *Peptides*, **11**:697-702.
- Sandín, B., Chorot, P., (2008). Concepto y caracterización de los trastornos de ansiedad. En *Manual de Psicopatología*. McGraw Hill Interamericana, España, pp. 44–61.
- Saper, C.B., Chou, T.C., & Scammell, T.E. (2001). The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in Neurosciences*, **24**:726–731.
- Sarason, I.G. and Sarason, B.R. (2006). *Trastornos de Ansiedad. Abnormal Psychology*. 11th ed. Pearson Prentice Hall, pp. 236–269.
- Scharf, M.T., Naidoo, N., Zimmerman, J.E., Pack, A.I. (2008). The energy hypothesis of sleep revisited. *Progress in Neurobiology*, **86**:264–280.
- Schmidt, M.H. (2014). The energy allocation function of sleep: A unifying theory of sleep, torpor, and continuous wakefulness. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **47**:122–153.
- Schmidt, M.V. y Müller, M.B. (2006). Animal models of anxiety. *Drug Discovery Today: Disease Models*, **3**:369-374.
- Secretaría de Salud Pública. (2012). Perfil Epidemiológico de la Salud Mental en México. Inner Traditions, México.
- Segerstrom, S.C., Roach, A.R., Evans, D.R., Schipper, L.J., Darville, A.K. (2010). The structure and health correlates of trait repetitive thought in older adults. *Psychology and Aging*, **25**:505–515.
- Sharma, R., Bradshaw, K., Sahota, P., Thakkar, M.M. (2014). Acute Binge Alcohol Administration Reverses Sleep-Wake Cycle in Sprague Dawley Rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, **38**:1941–1946.

- Shiromani, P.J., Lavier, V.-M., David, O., Shalauta, M., Lucero, S. y Floyd, C. (1991). Effects of Sleep Deprivation on Sleepiness and Increased REM Sleep in Rats Selectively Bred for Cholinergic Hyperactivity. *Sleep*, **14**:109-115.
- Silberman, Y., Bajo, M., Chappell, A.M., Christian, D.T., Cruz, M., Diaz, M.R., ... Weiner, J.L. (2009). Neurobiological mechanisms contributing to alcohol–stress–anxiety interactions. *Alcohol* **43**:509–519.
- Sillaber, I. and Henniger, M.S. (2004). Stress and alcohol drinking. *Annals of Medicine* **36**:596–605.
- Simasko, S.M., & Mukherjee, S. (2009). Novel analysis of sleep patterns in rats separates periods of vigilance cycling from long-duration wake events. *Behavioural Brain Research*, **196**:228–236.
- Smith, C. (2001). Sleep states and memory processes in humans: procedural versus declarative memory systems. *Sleep Medicine Reviews*, **5**:491–506.
- Smith, C. (1996). Sleep states, memory processes and synaptic plasticity. *Behavioural Brain Research*, **78**:49–56.
- Smith, J.P., & Randall, C.L. (2012). Anxiety and Alcohol Use Disorders. *Alcohol Research: Current Reviews*, **34**:414–431.
- Smith, A.D., Olson, R.J., Justice Jr., J.B. (1992). Quantitative microdialysis of dopamine in the striatum: effect of circadian variation. *Journal of Neuroscience Methods*, **44**:33–41.
- Spanagel, R., Noori, H.R. and Heilig, M. (2014). Stress and alcohol interactions: animal studies and clinical significance. *Trends in Neurosciences* **37**:219–227.
- Steimer, T. (2011). Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, **13**:495-506.
- Steimer, T., Python, A., Driscoll, P. and de Saint Hilaire, Z. (1999). Psychogenetically Selected (Roman High- and Low-Avoidance) Rats Differ in 24-Hour Sleep Organization. *Journal of Biological Rhythms*, **14**: 221–226.
- Stein, D.J. (2001). Comorbidity in generalized anxiety disorder: impact and implications. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 62 Suppl **11**:29–34; discussion 35-36.
- Stewart, R.B., Gatto, G.J., Lumeng, L., Li, T.K., & Murphy, J.M. (1993). Comparison of alcohol-preferring (P) and nonpreferring (NP) rats on tests of anxiety and for the anxiolytic effects of ethanol. *Alcohol*, **10**:1–10.
- Strine, T.W., & Chapman, D.P. (2005). Associations of frequent sleep insufficiency with health-related quality of life and health behaviors. *Sleep Medicine*, **6**:23–27.
- Suchecki, D., Tiba, P.A., & Machado, R.B. (2012). REM Sleep Rebound as an Adaptive Response to Stressful Situations. *Frontiers in Neurology*, **3**:1-12.
- Suzuki, T., George, F.R. y Meisch, R.A. (1988). Differential establishment and maintenance of oral ethanol reinforced behavior in Lewis and Fischer 344 inbred rat strains. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **245**:164-170.

- Tachè, J., Selye, H., (1985). On Stress and Coping Mechanisms. *Issues in Mental Health Nursing*, **7**:3–24.
- Takahashi, K., Lin, J.S., & Sakai, K. (2006). Neuronal Activity of Histaminergic Tuberomammillary Neurons During Wake–Sleep States in the Mouse. *Journal of Neuroscience*, **26**:10292–10298.
- Thakkar, M.M., Sharma, R. and Sahota, P. (2015). Alcohol disrupts sleep homeostasis. *Alcohol*, **49**:299–310.
- Timo-laria, C., Negràò, N., Schmidek, W.R., Hoshino, K., de Menezes, C.E.L., da Rocha, T.L. (1970). Phases and states of sleep in the rat. *Physiology & Behavior*, **5**:1057–1062.
- Trujillo, J.L., Do, D.T., Grahame, N.J., Roberts, A.J. y Gorman, M.R. (2011). Ethanol consumption in mice: relationships with circadian period and entrainment. *Alcohol*. **45**:147-159.
- Tyrer, P. and Baldwin, D. (2006). Generalised anxiety disorder. *The Lancet*, **368**:2156–2166.
- Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Holmgren, B., Eguibar, J.R., Gavito, A., Cruz, G., Santos, A., (1990). Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioural Brain Research*, **40**:29–35.
- Vermetten, E., Bremner, J.D., (2002). Circuits and systems in stress. I. Preclinical studies. *Depression and Anxiety*, **15**:126–147.
- Walker, M.P., Stickgold, R. (2004). Sleep-Dependent Learning and Memory Consolidation. *Neuron*, **44**:121–133.
- Walker, M.P., Helm, E. van der, (2009). Overnight Therapy? The Role of Sleep in Emotional Brain Processing. *Psychological Bulletin*, **135**:731–748.
- Weger, M. and Sandi, C. (2018). High anxiety trait: A vulnerable phenotype for stress-induced depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **87**:27–37.
- Wiedmann, K. (2015). Anxiety and Anxiety disorders. *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences*, **1**:804–810.
- Winklewski, P.J., Radkowski, M., Wszedybyl-Winklewska, M. and Demkow, U. (2017). Stress Response, Brain Noradrenergic System and Cognition. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **980**:67–74.
- Wolf, O.T., Atsak, P., de Quervain, D.J., Roozendaal, B., Wingenfeld, K., (2015). Stress and memory: A selective review on recent developments in the understanding of stress hormone effects on memory and their clinical relevance. *Journal of Neuroendocrinology*, **28**.
- Wright, C.E., Valdimarsdottir, H.B., Erblich, J., Bovbjerg, D.H. (2007). Poor sleep the night before an experimental stress task is associated with reduced cortisol reactivity in healthy women. *Biological Psychology*, **74**:319–327.

Ye, Y., Zhang, Y., Chen, J., Liu, J., Li, X., Liu, Y., ... Jiang, X.-J. (2015). Internet-Based Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia (ICBT-i) Improves Comorbid Anxiety and Depression—A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PLoS ONE*, **10**:1-11.

Yoo, S.S., Gujar, N., Hu, P., Jolesz, F.A., Walker, M.P. (2007). The human emotional brain without sleep — a prefrontal amygdala disconnect. *Current Biology*, **17**:877–878.

Yoshimoto, K., McBride, W.J., Lumeng, L., & Li, T.K. (1992). Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. *Alcohol*, **9**:17–22.