

24. 49

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

ADMINISTRACION CRONICA DE UN INHIBIDOR
DE LA SINTESIS DE PROTEINAS SOBRE EL CI
CLO VIGILIA-SUENO.

TESIS
QUE PARA OPTAR AL
TITULO DE BIOLOGO
PRESENTA

ROSA MARIA ESPEJEL Y MORALES

México, D.F., 1980.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	Pág.
<i>Introducción</i>	1
<i>Materiales y Métodos</i>	20
<i>Resultados</i>	23
<i>Discusión</i>	33
<i>Referencias</i>	38

INTRODUCCION

Todos los seres humanos ocupan aproximadamente un tercio de cada día en dormir. Eso significa que un 30% de nuestra vida la pasamos en ese estado profundamente misterioso al cual nos sometemos irresistiblemente permaneciendo apartados del mundo de la vigilia durante horas. Es sorprendente, sin embargo, - que los hombres sucumban diariamente a este estado - con tan poca curiosidad de lo que ocurre dentro de su cuerpo.

La impresión de que durante el sueño hay una disminución general de las actividades del organismo, - ha hecho creer que éste es un estado pasivo de inactividad identificable con la fatiga producida por la actividad de la vigilia. Aún cuando ya Aristóteles_ (Daly, 1973) hacía notar que el sueño es semejante a la epilepsia, concepto por demás contradictorio con la idea del sueño como un estado meramente pasivo, - originado por la desactivación de los mecanismos neurales responsables de la vigilia, esta noción de -- inactividad prevaleció hasta bien entrado el siglo - XX.

Fue durante una epidemia de encefalitis letárgica ocurrida en Europa en la Primera Guerra Mundial, que von Economo (1929) observó que los pacientes con lesiones en el hipotálamo posterior morían en estado de somnolencia, mientras que aquellos que presentaban lesiones en la parte anterior del mismo, morían en estado de insomnio. Con base en estas observaciones postuló la existencia de un sistema de sueño en el hipotálamo anterior y un sistema de vigilia en el hipotálamo posterior.

Hess (1931) pionero en las técnicas de estimulación eléctrica del cerebro, logró evocar la típica conducta de sueño, en gatos sin anestesia estimulados a bajas frecuencias a través de electrodos implantados a permanencia en la línea media del tálamo, en la vecindad de la masa intermedia. Hizo notar, además, que existía una gran inercia en la respuesta de sueño, ya que éste continuaba varias horas después de la estimulación y postuló que probablemente algún factor humoral contribuía a esta respuesta.

En 1936 Frédéric Bremer describió una serie de experimentos realizados en gatos, en los cuales por medio de secciones a nivel del mesencéfalo y en la región denominada C₁ en la médula espinal obtuvo las preparaciones conocidas como *cerveau isolé* y *encéphale isolé* respectivamente. La primera preparación trae como resultado a un animal constantemente dormido, mientras que la segunda preparación permite al

animal alternar entre la vigilia y el sueño.

La principal conclusión que, posteriormente, se obtuvo de los trabajos de Bremer, es que es necesaria - una influencia tónica originada por debajo del mesencéfalo pero por arriba de la médula espinal para el mantenimiento del ciclo vigilia-sueño.

En experimentos relacionados con el efecto crónico de secciones transversales en el hipotálamo de ratas albinas, Nauta (1946) confirmó y extendió los hallazgos de von Economo, concluyendo que la mitad rostral del hipotálamo en la región correspondiente al área preóptica y supraquiasmática, es el sitio en el cual se encuentra una estructura nerviosa que es de especial importancia para la capacidad del dormir. Hizo también la importante sugerencia de que el sueño es causado por una inhibición activa del hipotálamo anterior sobre el hipotálamo posterior.

La existencia del Sistema Reticular Activador - (SRA), centro específicamente responsable del mantenimiento de la vigilia, localizado en el cerebro medio, fue descubierta por Moruzzi y Magoum (1949), - destacando que la estimulación del SRA en un animal dormido causa su despertar mientras que su destrucción provoca que el animal caiga en un estado de coma permanente. Posteriormente, Moruzzi (1962) realizó experimentos más concluyentes en los que demostró que un corte del tallo cerebral en la mitad del puente y frente al nervio trigémino, da como resultado -

gatos insomnes que duermen solamente un 20% en vez -
del 65% normal.

Todos estos hallazgos agregaron nuevo interés a -
la hipótesis activa del sueño y permitieron concep -
tualizar la existencia en el cerebro de dos centros
antagónicos: uno de vigilia y otro de sueño.

a) Las Etapas de Sueño

El sueño ha sido tradicionalmente definido por -
criterios conductuales, sin embargo el estudio cien -
tífico del sueño ha ido agregando a estos criterios
el registro de las ondas cerebrales de los sujetos -
que duermen. En 1957, gracias a los estudios de sue -
ño en humanos realizados por Aserinsky y Kleitman --
(1953) y Dement y Kleitman (1957), fue publicada por
primera vez la clasificación de las etapas del sue -
ño, incluyendo la fase de movimientos oculares rápi -
dos (MOR). Esta clasificación fue posteriormente re -
visada por Rechtschaffen y Kales (1968).
Hoy en día sabemos que el sueño no es un estado cons
tante, sino que dentro del continuo que es pueden ob -
servarse diversos cambios tanto a nivel conductual -
como electrofisiológico, y que la mayoría de los ma -
míferos incluyendo al gato (Tabla 1), perro, mono, -
etc. presentan básicamente dos tipos de sueño:

1. Sueño Lento (SL), caracterizado por una dismi-

V i g i l i a

S u e ñ o

Atenta

Relajada

Sueño Lento

Sueño MOR

Actividad cortical	Ondas rápidas de bajo voltaje	Husos mezclados con ondas rápidas de bajo voltaje	Husos y ondas lentas de alto voltaje	Ondas rápidas de bajo voltaje
Actividad del hipocampo	Ritmo regular de ondas theta	Ritmo regular de ondas theta	Ondas lentas - irregulares de alto voltaje	Ritmo muy regular de ondas theta
Electromiograma	Alta amplitud	Mediana amplitud	Baja amplitud	Isoeléctrico con sacudidas
Movimientos oculares	Bifásicos continuos	Prácticamente ninguno	Ninguno	Estallidos bifásicos
Ondas Ponto-Geniculo-Occipitales	No hay	No hay	Se presentan solamente antes de pasar a MOR	Presentes (14,000 diarias!)
Conducta	Exploratoria	Sentado o recostado con cabeza levantada y ojos abiertos	Recostado de lado, ojos cerrados, respiración y ritmo cardíaco lentos	Recostado enrocado sobre sí mismo, sacudidas de las extremidades y el cuello, respiración irregular
Tiempo pasado en 24 horas	35% alternando entre las dos fases		50%	15%

nución en la actividad eléctrica de la corteza y de más estructuras subcorticales, aparición de husos de sueño y ondas lentas de alto voltaje en la corteza, - electromiograma de baja amplitud, actividad hipocámpica irregular con ondas lentas de alto voltaje, -- ojos cerrados, respiración pausada y actividad del - corazón lenta.

2. Sueño MOR, caracterizado por una actividad cortical de ondas rápidas de bajo voltaje que se presenta en el electroencefalograma (EEG) 30 a 40 minutos después de la fase de ondas lentas, ritmo regular - con ondas theta en el hipocampo, atonía muscular representada por un electromiograma isoelectrico, disparos de movimientos oculares rápidos, aparición en el EEG de espigas de alto voltaje en la formación reticular pontina, el cuerpo geniculado lateral y la - corteza occipital, denominadas ondas PGO, respira -- ción irregular e incremento del flujo sanguíneo local. (Figura 1)

En humanos las etapas de sueño están más diferenciadas y consisten en cuatro etapas de sueño sin -- MOR: Etapa I caracterizada por una dispersión del - ritmo alfa y actividad de ondas mixtas, etapa II caracterizada por una actividad de bajo voltaje acompañada de husos de sueño con frecuencia de 12-14/seg - y complejos K, etapa III representada por actividad delta de alta amplitud (20 a 50%), etapa IV con más del 50% del total del registro representado por acti

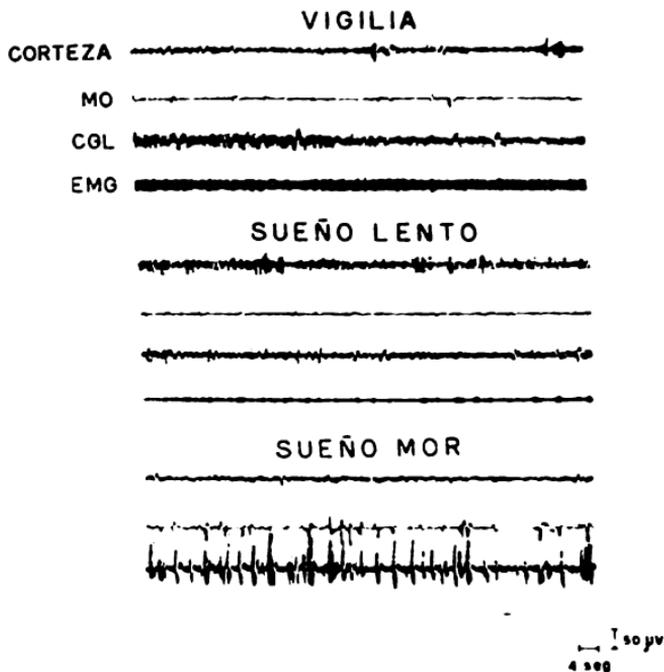


Figura 1. Diferencias electrofisiológicas existentes en los tres principales estados del ciclo vigilia-sueño. MO: Movimientos Oculares, - CGL: Cuerpo Geniculado Lateral, ENG: Electromiograma.

vidad delta, y una etapa de sueño MOR caracterizada por actividad cortical de ondas rápidas de bajo voltaje sin husos de sueño o complejos K y un marcado decremento del tono muscular del cuello y nuca.

En aves se presenta un típico estado de SI que eléctricamente se asemeja mucho al de los mamíferos, aunque no presenta husos y el número de ondas lentas es menor y el sueño MOR es muy corto y con características diferentes: presenta una pequeña aceleración de la actividad eléctrica del estriado, una fuerte reducción, aunque no una total desaparición, del tono muscular del cuello, disparos fásicos de movimientos oculares y bradicardia. Sin embargo en reptiles la fase MOR no ha sido observada hasta ahora, se presenta tan solo el estado de sueño lento.

b) Posibles Substancias Hipnogénicas

Gracias al establecimiento de las bases para el estudio electrofisiológico del sueño y paralelamente a los estudios de tipo anatomo-fisiológico, se inició la búsqueda de posibles sustancias involucradas en los mecanismos de inducción y mantenimiento del sueño. Un grupo importante lo constituyen las monaminas por su función como neurotransmisoras.

La administración de serotonina (5HT) en mamíferos por vía intravenosa (Bradley, 1958), intraarte -

rial (Roth y col., 1970), o intraventricular - (Koella y Czigman, 1966) induce las señales características del sueño de ondas lentas.

Asimismo, la inyección de 5HT en animales cuya barrera hematoencefálica es permeable, provoca sincronización cortical y sueño (Spooner y Winters, 1965). Resultados semejantes se obtienen de la aplicación local de serotonina al área postrema (Bronzino y col., 1972) y al núcleo del rafe (Drucker-Colín y col., -- 1972). Contrariamente, la administración de p-clorofenilalanina, un inhibidor de la síntesis de 5HT, -- (Koe y Weissman, 1966) provoca un estado conductual y un EEG de vigilia en ratas (Mouret y col., 1968), conejos (Florio y col., 1968), gatos (Delorme y col. 1966; Koella y col., 1968; Pujol y col., 1971) y monos (Weitzman y col., 1968).

Por otra parte Jouvét y col. (1966) trabajando - con gatos y basándose en el descubrimiento hecho por Dahlstrom y Fuxe (1964) de que la mayoría de las neuronas serotoninérgicas se encuentran localizadas en el núcleo del rafe, procedieron a la destrucción de dichas células a nivel del tallo cerebral, obteniendo una baja en los niveles de serotonina y un insomnio casi permanente en los animales. En humanos ha sido reportado (Freeman y col., 1974) el caso de pacientes con lesiones graves en el núcleo del rafe - que presentan un insomnio muy marcado.

Como resultado de los hechos anteriormente mencio

nados, se ha postulado la participación de la 5HT en la inducción y mantenimiento del sueño lento. Sin embargo, existen también evidencias que contradicen tal postulado. Jalowiec y col. (1973) han demostrado en perros, que las lesiones menores del rafe disminuyen el nivel de 5HT pero no afectan el ciclo vigilia-sueño; Dement y col. (1969) encontraron que los gatos a los que se mantuvo con un bajo nivel de 5HT mediante aplicaciones repetidas de paraclorofenilalanina recobraron su ciclo normal de sueño después de 7 u 8 días y Drucker-Colín y col. (1971) señalan que la administración sucesiva de paraclorofenilalanina a ratas privadas de sueño MOR, no bloquea el sueño lento.

Otro neurotransmisor postulado como posible regulador del sueño es la norepinefrina (NE). La destrucción bilateral del locus coeruleus, núcleo cuyas células son ricas en NE (Dahlstrom y Fuxe, 1964) provoca una gran disminución del sueño MOR. Asimismo, el bloqueo de la síntesis de NE mediante diferentes drogas (Jouvet, 1969) tiene un efecto selectivo sobre la fase MOR. Clarenback y Cramer (1972) han mostrado que las inyecciones de NE a pollos recién nacidos aumentan la cantidad de sueño MOR.

Pero como en el caso de la serotonina, existen también evidencias contradictorias con estos hallazgos. Así, la administración intracerebral de NE provoca un estado de despertar y desincronización corti

cal (Cordeau y col., 1963; Hernández-Peón, 1963; -- Torda, 1968). Por su parte Jalowiec y col. (1973) - no encontraron alteraciones en el sueño MOR después de lesionar las vías noradrenérgicas dorsales.

En 1967, partiendo de los datos conocidos hasta - ese momento y como resultado de sus propias investi- gaciones, Michel Jouvet postuló una posible teoría_ monoaminérgica del sueño, la cual señala a las neuro- nas serotoninérgicas del núcleo del rafe y a las neu- ronas catecolaminérgicas del tegumento pontino como_ determinantes en el disparo de las etapas del sueño_ lento y sueño MOR, respectivamente.

En lo que se refiere a la acetil-colina, (Ach), - Hernández-Peón y col. (1963) han demostrado la exis- tencia de un amplio sistema colinérgico con caracte- rísticas hipnogénicas mediante la aplicación local - de microcristales de Ach en diferentes áreas del ce- rebro. Esta aplicación es seguida por la aparición de sueño de ondas lentas y más tarde por la apari- ción de sueño MOR. Además, se ha observado durante_ la fase MOR de sueño, un incremento en la liberación de Ach en la corteza (Jasper y Tessier, 1971) y en - el núcleo caudado (Gadea-Ciria y col., 1973), datos ambos que apoyan la participación de la Ach en la re- gulación de sueño.

Se han realizado algunos trabajos tratando de de- mostrar que el ácido gama-aminobutírico (GABA) juega

algún papel en el sistema del sueño, pero se ha encontrado poca evidencia que apoye este punto.

Las contradicciones evidentes y la falta de un número mayor de datos, hace pensar que los neurotransmisores no tienen realmente un papel determinante en la regulación del ciclo vigilia-sueño.

Otro cuerpo de investigaciones relacionado con la búsqueda de posibles sustancias hipnogénicas pero con un enfoque experimental diferente, nació de los experimentos realizados a principios de siglo por Legendre y Pieron (1910). Estos demostraron que el líquido cefalorraquídeo (LCR) extraído de perros privados de sueño e inyectado posteriormente en el cuarto ventrículo de perros normales, no privados de sueño, provocaba en estos últimos somnolencia y sueño. Dichos resultados permitieron sugerir que durante la vigilia se acumulaba en el LCR una hipnotoxina con propiedades inhibitorias que conducía al estado de sueño.

Estas observaciones fueron posteriormente confirmadas por Kroll (1933) y por Schondorf e Ivy (1939).

Los estudios más recientes, como son los de Monnier y col. (1963) han demostrado la existencia de un factor inductor de sueño en el flujo sanguíneo. En estos trabajos, mediante la unión de las carótidas y yugulares de un conejo donador a un conejo receptor, se conseguía tener una circulación cruce-

da; enseguida, el conejo donador era estimulado en la región intralaminar del tálamo medio central, lo cual le inducía sincronización cortical en el electroencefalograma o actividad delta, segundos después el conejo receptor presentaba la misma actividad. Estos resultados señalaban la presencia de un factor hipnogénico en la sangre. En trabajos posteriores (Monnier y col., 1964, 1965, 1971, 1974) este factor activo fue aislado, purificado y caracterizado, y hoy se sabe que es un péptido con peso molecular de 848.98 daltones que recibe el nombre de "Péptido inductor de sueño delta" (DSIP).

Pappenheimer y col. (1967) han realizado trabajos en los que han logrado inducir sueño de ondas lentas a gatos y ratones mediante la inyección en sus ventrículos de líquido cefalorraquídeo de cabras privadas de sueño. Posteriormente Fencl y col. (1971) lo lograron aislar y caracterizar el factor responsable de estos resultados denominándolo "factor S", el cual tiene un peso molecular de aproximadamente 500 daltones.

Drucker-Colln y col. (1970, 1972, 1973, 1974) mostraron que perfusados de la formación reticular mesencefálica (FRM) de gatos donadores, obtenidos durante la fase de ondas lentas, son capaces de inducir sueño cuando son perfusados en la FRM de gatos receptores despiertos.

Resultados semejantes han sido obtenidos con perfusa

dos de la FRM de gatos dormidos perfundidos al área preóptica de gatos receptores (Rojas-Ramírez y col., 1974).

Un grupo de investigadores japoneses, seguidores del concepto de Piéron de que la sustancia promotora de sueño se acumula durante la vigilia, reportó que la inyección intraperitoneal de extracto de tálamo cerebral de ratas privadas de sueño, provocaba un decremento en la actividad motora y un incremento en la cantidad de sueño de ondas lentas en las ratas receptoras. El factor activo aislado tiene un peso molecular de 200 a 700 daltones y parece ser una sustancia peptídica con fuertes propiedades inhibitorias, (Nagasaki y col., 1976).

En 1933 Bancroft y Rutzler sugirieron que "el sueño debía ser, por lo menos en parte, producto de una aglomeración reversible de algunas proteínas en los centros de la conciencia". Fue esta, tal vez, la primera teoría que hace mención del posible papel de las proteínas en el sueño. Más recientemente, Oswald (1969) sugirió que el rebote de sueño MOR que se presenta durante el período de abstinencia a una droga, indica una fase de reparo neuronal reflejada por el aumento en la síntesis de proteínas.

Por otra parte, Scbillier y col. (1973) han mostrado que la privación de sueño MOR va asociada con un decremento de la síntesis proteica, y Drucker-Co-

Colín y col. (1975) reportaron que las proteínas cerebrales presentan un ritmo cíclico y que los picos del ciclo de proteínas corresponden a los períodos en los cuales la fase MOR ocupa la mayor parte del tiempo de registro. (Figura 2)

Pegram y col. (1973) encontraron que la inyección de cicloheximida a ratones produce una disminución selectiva de la fase MOR. Estos datos han sido posteriormente corroborados en ratas (Rojas-Ramírez y col., 1977) y en gatos (Drucker-Colín y col., 1979), después de la administración de anisociclina y cloranfenicol, ambos inhibidores de la síntesis proteica.

Igualmente Kitahama y Velatz (1975) trabajando con ratas y Petitjan y col. (1979) trabajando con gatos han encontrado una disminución del sueño MOR seguida a la administración de cloranfenicol. Todos estos estudios indican además, que la fase de sueño de ondas lentas no se ve afectado excepto si la dosis administrada es muy alta (Petitjan y col., 1979) y que el decremento en la cantidad de sueño MOR es debido a una reducción en la frecuencia de su aparición y no a una reducción en la duración de sus períodos (Pegram y col., 1973; Rojas-Ramírez y col., 1977; Drucker-Colín y col., 1979).

Los datos de algunos trabajos mencionados anteriormente dejan entrever que existen una serie de compuestos capaces de alterar el ciclo vigilia-sueño.

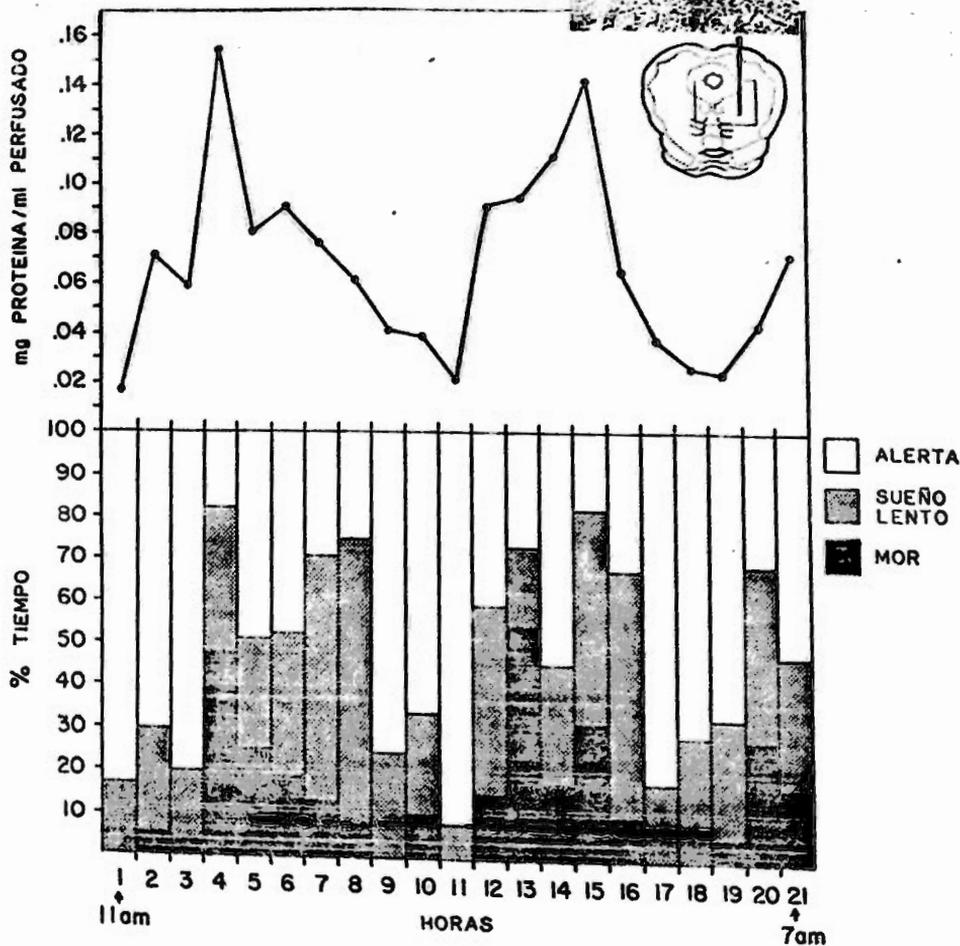


Figura 2. Cantidad de proteínas obtenidas en las diferentes fases de sueño durante veintidós horas de registro.

No; otros de ellos parecen indicar, más particularmente, una estrecha conexión entre el sueño y el metabolismo proteico. Algunos autores sugieren, sin embargo, que una vez que el organismo se ha vuelto tolerante al fármaco administrado, aquél recupera su ciclo normal de sueño. Partiendo de estos hechos, el presente trabajo intenta determinar los efectos sobre el sueño, de un inhibidor de la síntesis de proteínas: el cloranfenicol (CAP), administrado únicamente y establecer si existe una respuesta fisiológica a dicha inhibición.

c) La Molécula de Cloranfenicol

El cloranfenicol es un producto de la fermentación de *Streptomyces venezuelae*, contiene un grupo nitro y un grupo dicloroacetil, ambos poco usuales en un producto natural.

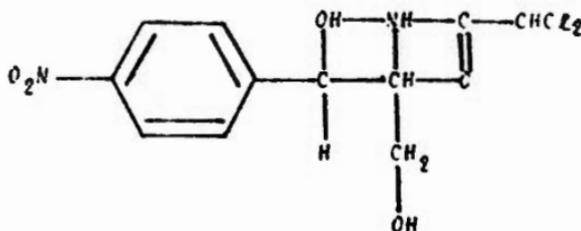


Figura 3 Estructura del cloranfenicol

Fue aislado en 1947 por Ehrlich (Bhagavan, 1978) y a partir de 1949 empezó a ser muy utilizado en la tera
peútica humana.

Es un antibiótico bacteristático con un espectro antibacterial muy semejante al de las tetraciclinas. - Es efectivo contra varios tipos de bacterias gram positivo y gram negativo, presentando un moderado efecto contra la salmonelosis. Es absorbido casi completamente del intestino por lo que su toxicidad gastrointestinal no es muy frecuente. Sin embargo es tóxico para la médula ósea pudiendo originar trombocitopenia, leucopenia o anemia aplásica. Su administración continua puede provocar daños irreversibles. Su uso es restringido, por lo tanto, al tratamiento de fiebre tifoidea, otras salmonelosis, algunos casos de meningitis causada por *Hemophilus influenzae* e infecciones causadas por bacterias resistentes a otros agentes. Experimentalmente se ha mostrado muy eficaz en el tratamiento de ratones infectados con cierto tipo de rickettsias y virus. Clínicamente ha probado su eficacia en el tífus epidémico, tífus exantemático y en la fiebre moteada de las Montañas Rocallosas.

Administrada a mamíferos por vía oral, la molécula de cloranfenicol es transformada en el intestino, donde gracias a los microorganismos de la flora intestinal que contiene una enzima específica, la acetil transferasa, sufre una acetilación a nivel de los carbonos 1 y 3 de la cadena lateral del propano-

díol. Los dos Esteres del ácido acético formados - son el 3 acetoxi-cloranfenicol y el 1-3 diacetoxi-cloranfenicol. Las moléculas esterificadas son hidrolizadas por otra enzima, una B-esterasa, quedando entonces constituida la forma activa; esta transformación se realiza a nivel de hígado e intestino. El CAP es luego glucuro conjugado por acción de la glucoronil-transferasa de los microsomas del hígado y finalmente excretado por la bilis y el riñón.

El cloranfenicol ejerce su acción antibacteriana inhibiendo la síntesis proteica a nivel de ribosomas interfiriendo en la secuencia de formación de péptidos. Se fija a la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos impidiendo la prolongación de la cadena más allá del primer enlace peptídico debido a su acción inhibitoria sobre la peptidil-transferasa.

MATERIALES Y METODOS

Los sujetos de experimentación utilizados fueron dieciocho gatos adultos (machos y hembras) con un peso entre 2.5 y 3.8 Kg.

Implantación

Bajo anestesia barbitúrica (35mg/Kg) y mediante la técnica estereotáxica, todos los animales fueron implantados con electrodos bipolares en el cuerpo geniculado lateral (CGL), electrodos de tornillo en corteza cerebral y canto externo del ojo y electrodos de alambre en los músculos de la nuca. Todo el conjunto fue soldado a un conector Cannon y fijado al cráneo con acrílico dental.

Antes de iniciar los experimentos los animales tuvieron un período de recuperación post-operatoria de una semana.

Los experimentos fueron divididos en dos etapas. Para la primera fueron utilizados doce gatos a los cuales se les colocó en jaulas donde podían moverse li-

brevemente y se les conectó a un polígrafo modelo GRASS 79 con el fin de registrar la actividad muscular, ocular, de corteza y CGI. Se efectuaron dos registros iniciales de doce horas cada uno (8 a 20 hrs). El primer registro fue de adaptación para los animales y el segundo se consideró como el registro basal. Enseguida se les administró por vía oral una dosis de 100mg/Kg de cloranfenicol dos veces al día (8 y 20 hrs) durante nueve días continuos. Al décimo día los animales fueron divididos en dos grupos de seis cada uno; durante los tres días siguientes, a un grupo se le siguió administrando la misma dosis de cloranfenicol mientras que al otro grupo se le dio una cápsula placebo. Durante el tratamiento se hicieron registros poligráficos de doce horas los días 1, 5, 9, 10, 11 y 12.

Para la segunda parte fueron utilizados los seis animales restantes del total inicial, a los que también se les efectuaron dos registros basales de doce horas cada uno. A continuación, mediante la técnica de florero invertido que consiste en colocar al animal sobre una pequeña plataforma rodeada de agua, de tal manera que la relajación somática general asociada al sueño MOR provoque que este caiga al agua y se despierte, los gatos fueron privados de la fase MOR de sueño por un período de setenta y dos horas. Durante este tiempo los animales tuvieron dos períodos de descanso diarios de veinte minutos cada uno que utilizaban para comer y relajarse sin que se les per

mittera dormir. Una vez terminado el periodo de privación se realizó un registro de sueño de treinta y seis horas continuas. Después de una semana de descanso se volvió a efectuar el mismo procedimiento, sólo que esta vez se administró a los animales una dosis de 100mg/Kg de cloranfenicol por vía oral después del periodo de privación de MOR y antes del registro de treinta y seis horas. Se utilizó cloranfenicol Sigma.

Los datos poligráficos fueron analizados visualmente y clasificados en tres patrones separados: vigilia, sueño de ondas lentas y sueño MOR. Para determinar las diferencias estadísticas fueron realizadas pruebas de t-Student.

RESULTADOS

a) Efecto de la Administración Crónica de Cloranfenicol

Los resultados de la primera parte del experimento muestran una clara disminución de la fase MOR de sueño después de la administración de 100mg/Kg de cloranfenicol por vía oral, que es, con relación al control, de 46% el 1º día de tratamiento, 22% el 5º día, 33% el 9º día, 25% el 10º día, 36% el 11º día y 30% el 12º día, (Figura 3).

En relación a la vigilia y a la fase de sueño de ondas lentas, no parece presentarse ningún cambio, con excepción del primer día de administración del inhibidor de la síntesis de proteínas (ISP) en que la vigilia presenta un aumento significativo. (Tabla 2). Observamos también que el decremento en la fase MOR es debido a una significativa disminución en la frecuencia de aparición y no en la duración de los períodos MOR, ya que una vez que éste se presenta la duración no se ve afectada, (Figura 4). En los resultados resumidos en la tabla 2 vemos, asimismo, que el cloranfenicol administrado crónicamente no produ-

ce ningún efecto de rebote de sueño, ya que después del retiro de la administración de cloranfenicol, las medidas de los parámetros de sueño no fueron significativamente diferentes del control, más aún, el día diez todavía se presenta una inhibición del 11%, en relación al control, que tiende a desaparecer hacia el día 11 y que para el día 12 ha sido completamente superada (Figura 5).

Es posible, sin embargo, que la carencia de efecto de rebote sea debido a que el MOR fue solo parcialmente suprimido, o tal vez el rebote se presente más de tres días después del retiro de cloranfenicol.

b) Efecto de la Administración de Cloranfenicol después de Privación de Sueño MOR

Los resultados de la segunda parte del experimento (Tabla 3) muestran que después que los animales han sido selectivamente privados durante setenta y dos horas de la fase MOR, tienden a recuperar el tiempo que han sido privados de ella presentando un marcado efecto de rebote (Figura 6a). Sin embargo, este efecto es bloqueado mediante la administración de cloranfenicol, presentándose incluso valores menores que durante el registro control, o sea que el cloranfenicol además de impedir el rebote, disminuye la cantidad de MOR aunque no significativamente como en el caso de la administración crónica (Figura 6b).

Al igual que en los resultados de la primera parte, no se presentan cambios en la duración de los períodos MOR ni durante la administración del placebo ni durante la administración de cloranfenicol. La frecuencia, sin embargo, presenta un notable aumento durante las primeras doce horas de registro después de la administración de placebo, y durante la administración de cloranfenicol hay una significativa reducción de la frecuencia de MOR durante las treinta y seis horas de registro. (Figura 7)

Tabla 2 Efecto de la administración crónica de cloranfenicol sobre el ciclo vigilia-sueño de gatos (Media \pm ES)

	CONTROL	CLORANFENCICOL DIARIO 100mg./Kg.								
		Día 1	Día 5	Día 9	Día 10	Día 11	Día 12	ABSTINENCIA		
								Día 10	Día 11	Día 12
Vigilia	37.06 \pm 4.33	53.88 \pm 5.60 [*]	44.49 \pm 5.28	47.51 \pm 5.38	45.16 \pm 6.93	51.26 \pm 4.98	51.04 \pm 6.64	37.80 \pm 8.16	39.52 \pm 6.08	33.43 \pm 3.50
Sueño de ondas lentas	44.72 \pm 3.80	36.82 \pm 4.82	41.33 \pm 5.02	39.94 \pm 4.96	41.28 \pm 5.18	37.13 \pm 4.60	36.10 \pm 4.51	46.07 \pm 8.21	42.57 \pm 5.86	45.93 \pm 3.91
Sueño MOR	18.22 \pm 1.44	9.77 \pm 1.17 ^{**}	13.06 \pm 1.24 [*]	12.58 \pm 1.99 [*]	13.60 \pm 4.09	11.61 \pm 1.40 [*]	12.67 \pm 1.72 [*]	16.13 \pm 3.13	17.89 \pm 1.33	20.66 \pm 1.77
Frecuencia de MOR	21.67 \pm 2.31	12.00 \pm 1.45 ^{**}	14.17 \pm 1.36 [*]	14.92 \pm 1.61 [*]	18.50 \pm 4.49	13.17 \pm 1.83 [*]	14.67 \pm 1.88 [*]	19.00 \pm 2.69	19.33 \pm 1.04	22.00 \pm 1.34
Duración de MOR (minutos)	5.52 \pm 0.36	5.10 \pm 1.12	5.96 \pm 0.39	4.91 \pm 0.50	4.95 \pm 0.51	5.18 \pm 0.67	5.52 \pm 0.81	6.22 \pm 1.02	6.52 \pm 0.49	6.72 \pm 0.74

* P 0.02
** P 0.01

Tabla 3

Efectos de setenta y dos horas de privación de MOR con administración posterior de placebo o cloranfenicol sobre el ciclo vigilia-sueño de gatos (Media[±] ES).

	CONTROL	P L A C E B O			CONTROL	CLORANFENICOL (100mg./Kg.)		
		0-12 hrs.	12-24 hrs.	24-36 hrs.		0-12 hrs.	12-24 hrs.	24-36 hrs.
Vigilia	27.68 [±] 5.76	20.66 [±] 5.34	22.59 [±] 6.51	19.71 [±] 3.60	28.48 [±] 5.18	35.60 [±] 5.60	26.88 [±] 5.72	36.77 [±] 2.84
Sueño Lento	56.84 [±] 4.48	46.74 [±] 5.40	57.52 [±] 6.60	60.43 [±] 4.38	51.29 [±] 3.84	41.43 [±] 3.95	54.33 [±] 4.08	45.97 [±] 7.56
Sueño MOR	15.46 [±] 2.07	32.75 [±] 2.02 [*]	20.55 [±] 2.67	19.85 [±] 3.74	19.62 [±] 3.38	11.56 [±] 2.81	11.80 [±] 2.73	11.16 [±] 2.66
Frecuencia MOR	13.66 [±] 1.99	24.00 [±] 4.54 ^{°°}	21.00 [±] 3.46	15.83 [±] 2.25	22.00 [±] 2.53	11.00 [±] 2.58 ^{°°}	11.33 [±] 2.24 ^{°°}	10.16 [±] 3.66 ^{°°°}
Duración MOR (minutos)	6.60 [±] 0.80	8.84 [±] 1.71	7.32 [±] 0.81	9.61 [±] 2.53	6.73 [±] 1.16	7.78 [±] 1.07	7.19 [±] 0.86	9.64 [±] 2.29

° P .001

°° P .01

°°° P .05

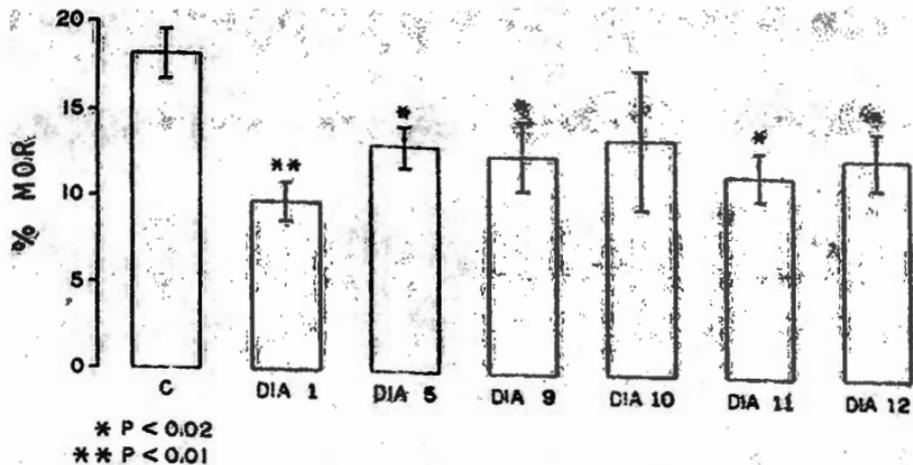


Figura 3. Efectos MOR durante la administración crónica de 100mg/Kg de etoricoxib expresados en % del tiempo de registro ± E.S.

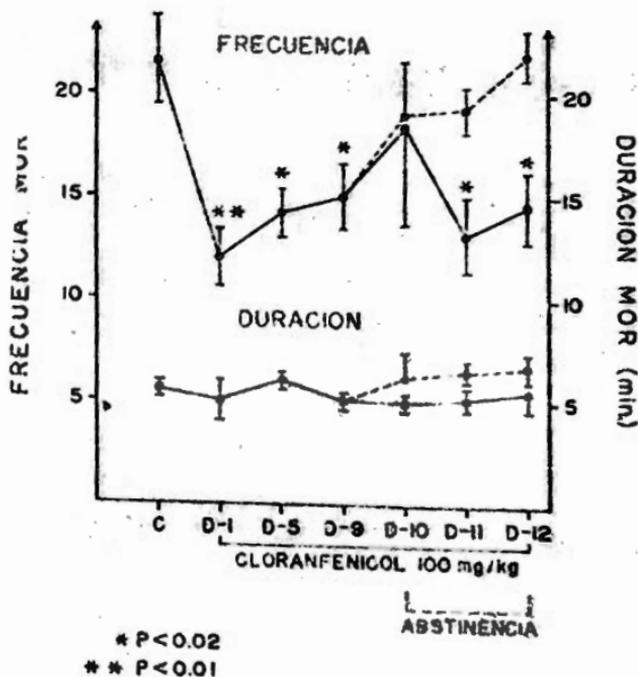


Figura 4. Frecuencia y duración de las fases MOR durante el tratamiento y el retiro de la administración de clorazepicol. [± E.S.]

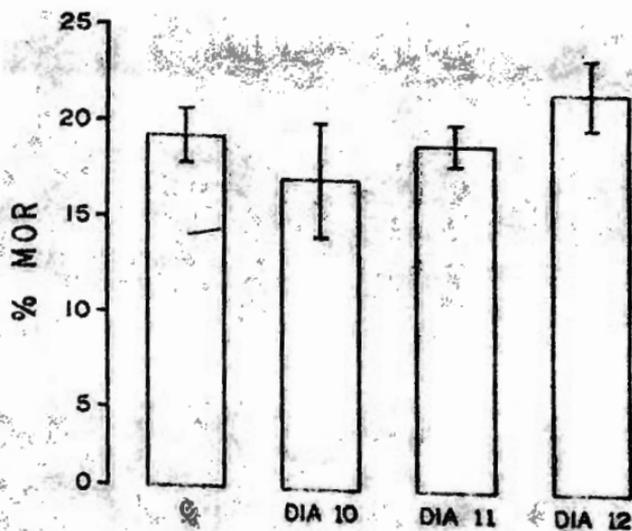
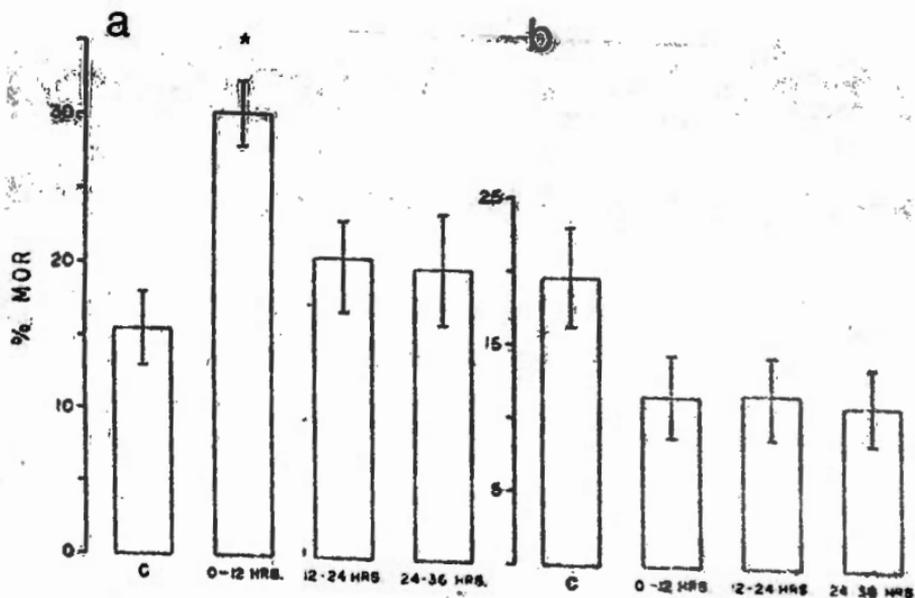


Figura 5. Fases MOR durante el registro de la administración cárnica de clonazepamol expresadas en % del tiempo de registro \pm E.S.



*p < .001

Figura 6.

a. Fases MOR de sueño después de setenta y dos horas de privación de dicha fase expresadas en % del tiempo de registro \pm E.S.

b. Fases MOR después de setenta y dos horas de privación de dicha fase, seguida de la administración de 100mg/Kg de cloranfenicol, expresadas en % del tiempo de registro \pm E.S.

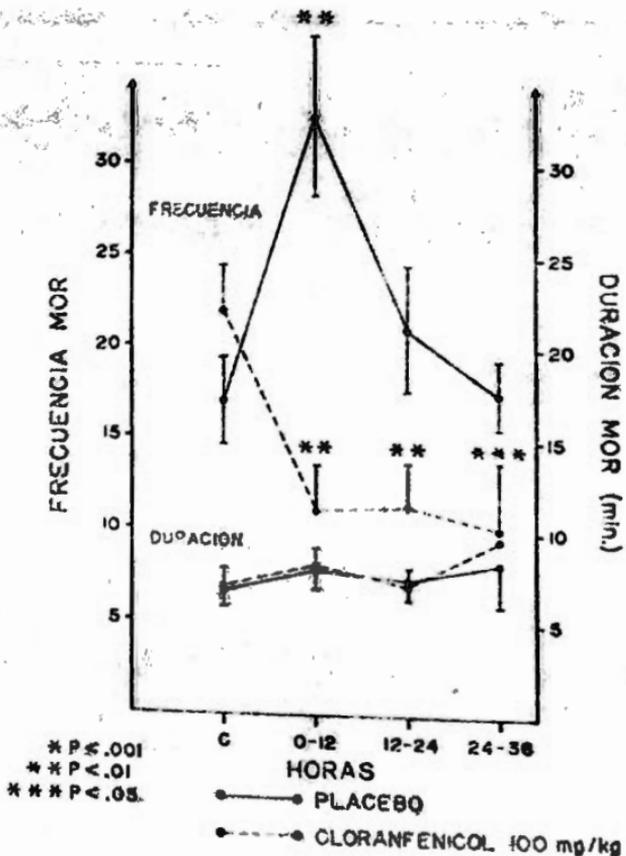


Figura 7. Frecuencia y duración de las fases MOR después de setenta y dos horas de privación de dicha fase seguida de la administración de 100mg/kg de clorfenicol o placebo. (\pm E.S.)

DISCUSION

Los resultados de este estudio muestran que el cloranfenicol tiene un efecto específico sobre el sueño MOR y que la inhibición causada por el inhibidor de la síntesis de proteínas no es un efecto transitorio sino que se presenta durante todo el tiempo que la droga es administrada. Esto sugiere la posibilidad de que la síntesis de proteínas tenga un papel importante en la fase MOR del sueño.

Acerca de la forma de acción del cloranfenicol como inhibidor de la síntesis de proteínas podemos citar lo siguiente:

En levaduras el cloranfenicol inhibe específicamente la síntesis de proteínas mitocondrial tanto in vivo como in vitro. En presencia de este antibiótico las levaduras no sintetizan los citocromos mitocondriales a, a₃, b y c₁, sin embargo la síntesis de proteínas realizadas por los ribosomas no se ve afectada.

Vásquez (1964, 1966) ha reportado que los siste -

mas bacterianos de síntesis de proteínas son sensibles al cloranfenicol, in vitro, solamente bajo condiciones que semejan altamente las condiciones in vivo, específicamente una alta concentración de potasio; la unión del cloranfenicol a la subunidad 50S requiere de este elemento. Reforzando estos hallazgos, Cunningham y Bridgers (1970), han mostrado que la inhibición in vitro de la síntesis de proteínas mitocondrial por cloranfenicol, en preparaciones de hígado y cerebro de rata, tiene lugar solamente en un medio rico en potasio.

En relación a tejidos de mamíferos, Godchaux y Herbert (1966), han reportado que la administración de cloranfenicol (1mg/ml) a reticulocitos intactos de conejo, parece interferir con la formación de AIP, y Freeman y Haldax (1968) sugieren que el cloranfenicol actúa como un inhibidor entre el NADH y el citocromo b en mitocondrias de corazón de vaca. Firkin y Linnane (1968) muestran dos efectos del cloranfenicol sobre células HeLa: a bajas concentraciones (20mg/ml) hay una inhibición selectiva de los citocromos mitocondriales a , a_3 , b y c_1 , teniendo como resultado la inhibición de solamente una pequeña cantidad de proteínas mitocondriales sin que la síntesis de proteínas citoplasmáticas se vea afectada; a altas concentraciones (100-150 mg/ml) la droga inhibe directamente la respiración mitocondrial de las células HeLa intactas y aisladas, siendo este hecho, probablemente, el responsable del cese inmediato del

crecimiento celular.

En general, las mitocondrias de todas las fuentes que han sido examinadas poseen, in vitro, la capacidad de incorporar amino ácidos a proteínas estructurales, utilizando un sistema muy semejante al de la síntesis de proteínas bacteriano. La inhibición de este proceso por cloranfenicol y la resistencia a la inhibición mediante la administración de ciclo heximida, han servido para distinguir la síntesis de proteínas mitocondrial de la efectuada por el sistema ribosomal del citoplasma de eucariontes (Cunningham y Bridgers, 1970). Sin embargo, las mitocondrias aisladas de cerebro han mostrado ser una excepción a estas observaciones, presentando resistencia a la inhibición por cloranfenicol y sensibilidad a la cicloheximida (Gordon y Deanin, 1968). Este hecho representa una característica distintiva de las mitocondrias cerebrales y puede ser atribuida a la presencia de ribosomas del tipo normalmente encontrado en el citoplasma de células eucariontes. Se requiere, sin embargo, abundar en este tipo de estudios para aclarar si las mitocondrias cerebrales realmente difieren de las otras y poseen, entonces, dos tipos de ribosomas, o si la inhibición producida por la cicloheximida es solamente una medida de un grado poco usual de contaminación ribosomal citoplasmática (Cunningham y Bridgers, 1970).

Durante el sueño MOR la actividad cerebral es muy

intensa y se requiere de gran cantidad de energía: a la luz de la acción del cloranfenicol sobre la síntesis de proteína mitocondrial, se podría pensar que éste bloquea la producción de energía y por consiguiente la aparición del sueño MOR, sin embargo se ha demostrado que el tianfenicol y la oxitetraciclina, que también afectan la síntesis de proteína mitocondrial, no tienen efecto sobre la fase MOR -- (Petitjean y col. 1979).

Aunque usualmente se cree que el cloranfenicol solamente afecta la síntesis de proteínas mitocondrial, la inhibición por este antibiótico de la incorporación de amino ácidos a proteínas en los ribosomas de reticulocitos, permitió a Weisberger y Kolbe (1964) concluir que los ribosomas citoplasmáticos son el sitio de acción del cloranfenicol en tejidos de mamíferos.

Ramírez (1973) ha mostrado claramente que el cloranfenicol produce una fuerte inhibición de la síntesis de proteínas en la membrana sináptica y recientemente Chiu y Babitch (1980) han reportado que las proteínas de la membrana sináptica son diferentes a las proteínas mitocondriales tanto sinápticas como no sinápticas.

Por otra parte Zetler (1976), con base a trabajos sobre péptidos hipotalámicos, ha postulado la hipótesis de la existencia de neuronas peptidérgicas -

distribuidas en el cerebro de manera semejante a las neuronas aminérgicas y colinérgicas, y con la capacidad de sintetizar un péptido específico, posible neurotransmisor o regulador de la actividad cerebral. - Se contempla, entonces, la posibilidad de una acción directa del cloranfenicol sobre la síntesis de proteínas de las células nerviosas. Sin embargo, dado el grado de conocimiento sobre el mecanismo y el sitio de acción del cloranfenicol, no es posible hacer una conclusión definitiva. Los resultados sugieren que la síntesis de proteínas tiene un papel importante - en el sueño MOR y que este papel está en relación - con el mecanismo de disparo más que con el mecanismo de mantenimiento de dicha fase, ya que el cloranfenicol afecta la frecuencia y no la duración de los períodos MOR durante todo el tratamiento. En la parte experimental de la privación de sueño MOR, vemos que el cloranfenicol bloquea el efecto de rebote a costa, nuevamente, de una disminución en la frecuencia y sin que la duración se vea afectada.

En resumen, podemos pensar que el cloranfenicol - inhibe la síntesis de alguna macromolécula implicada en el mecanismo de disparo del sueño MOR.

BIBLIOGRAFIA

Aserinsky, E., y Kleitman, N. (1953). Two types - of ocular motility occurring in sleep. *J. Appl. Physiol.* 5: 1-10.

Bancroft, W.D. y Ruzicka, J.E. (1933) The agglutination theory of sleep. *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.)* 19: 73-78.

Bhagavan, N.V. (1978) *Bioquímica*. Ed. Interamericana, México.

Bobillet, P., Froument, Y., Séguin, S. y Jouvot, M. (1973) Effets de la p-chlorophenylalanine et du 5 hydroxytryptophane sur le sommeil et le métabolisme central des monoamines. *Biochem. Pharmac.* 22: 3077.

Bradley, P.B. (1958) The effects of 5-hydroxytryptamine on the electrical activity of the brain and on behavior in the conscious cat. En *5-Hydroxytryptamine*, pp. 118-131. Ed. G.P. Lewis. Pergamon Press: London.

Bremer, F. (1936). Cerveau isolé et physiologie
du sommeil. C. R. Soc. Bio. (Paris).
122: 464-467.

Bronzino, J.D., Mongano, P.J., y Stern, M.C.
(1972) EEG synchronization following application of
serotonin to area postrema. Amer. J. Physiol.
223: 376-383.

Chiu, T-CH; y Babbitt, J.A. (1986) Externally --
disposed polypeptides of chick brain mitochondria.
Brain Res. 154: 119-126.

Clarenbach, P. y Krämer, H. (1972) Polygraphic -
sleep pattern in newly hatched chickens: effects of
nor-adrenaline and 6-hydroxydopamine. Brain. Res. -
43: 695-699.

Cordeau, J.P., Moreau, A., Beaulnes, A. y Laroche,
C. (1963) EEG and behavioral changes following micro
injections of acetylcholine and adrenaline in the --
brain stem of cats. Arch. Ital. Biol. 101: 30-47.

Cunningham, R.D. y Bridgens, W.L. (1976) Brain -
and liver mitochondrial protein synthesis: --
potassium dependent chloramphenicol inhibition.
Biochem. Biophys. Res. Com. 38: 99-105.

Dahlstrom, A. y Fuxe, K. (1964) Evidence for the
existence of monoamine neurons in the central ner -

vous system I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. Acta Physiologica Scand. 62: 1-55.

Daly, D.D. (1973) Circadian cycles and seizures. In Epilepsy: Its Phenomena in Man. UCLA Forum in Medical Sciences, No. 17, New York: Academic Press.

Delorme, F., J.L. y Jouvet, M. (1966) Suppression du sommeil par la p-chloroamphetamine et p-chlorophenylalanine. C.R. Soc. Biol. (Paris) 159: 900-903.

Dement, W., y Kleitman, N. (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility and dreaming. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 9: 673-690.

Dement, W., Zarecone, V., Ferguson, J., Cohen, H., Pivik, T. y Barbas, V. (1969) Some parallel findings in schizophrenia patients and serotonin-depleted cats. In Schizophrenia: Current Concepts and Research, pp. 775-811. Ed. D.V. Silva Sandoz. Heksvill: PID Publications.

Drucker-Collin, R.R., Rojas-Ramirez, J.A., Vera-Trueba, J., Montoy-Ayala, G. y Hernandez-Peón, R. (1970) Effect of crossed-perfusion of the mid-brain reticular formation upon sleep. Brain Res. 25: 269-273.

Drucker-Collin, R.R., Jacques, L.B. y Gundershan, T. (1971). Anemia from sleep deprivation with anticoagulants in rats with enhancement by PCPA. Pharmac. - Biochem. Behav. 2: 816-827.

Drucker-Collin, R.R., Rojas-Ramirez, J.A. y Rodriguez, R. (1972) Serotonin-like EEG and behavioral effects of quipazina. Fed. Proc. 31: 317.

Drucker-Collin, R.R. (1973) Crossed perfusion of a sleep inducing brain tissue substance in conscious cats. Brain Res. 56: 123-134.

Drucker-Collin, R.R. (1974) The possible nature of sleep inducing brain perfusates: their relationship to seizure inhibition. En Neurohumoral Coding of Brain Function, pp. 233-256. Ed. R.D. Myers y R.R. Drucker-Collin. New York: Plenum.

Drucker-Collin, R.R. y Spanis, C. (1975) Neurohumoral correlates of sleep: Increase of proteins during rapid eye movement sleep. Experientia. 31: 557-559.

Drucker-Collin, R.R., Spanis, C.W., Colman, C.W. y Mc. Gaugh, J.L. (1975) Changes in proteins in perfusates of freely moving cats: relation to behavioral state. Science. 187: 965-965.

Drucker-Collin, R.R., Zamora, J., Bernal-Pedraza,

J. y Sosa, B. [1979] Modification of REM sleep and associated phasic activities by protein synthesis inhibitors. *Exp. Neurol.* 63: 458-467.

Economou, G. von. [1929] Schlaftheorie. *Ergeb. Physiol.* 28: 312-339.

Fönel, V., Koski, G. y Pappenheimer, J.R. [1977] Factors in cerebrospinal fluid from goats that affect sleep and activity in rats. *J. Physiol. (Lond.)* 216: 565-589.

Fiskin, F.C. y Linnane, A.W. [1968] Differential effects of chloramphenicol on the growth and respiration of mammalian cells. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 32: 398-402.

Florio, V., Scotti de Carolis, A. y Longo, V.G. [1968] Observations on the effect of DL-parachlorophenylalanine on the electroencephalogram. *Physiol. Behav.* 3: 861-865.

Freeman, K.B. y Haldan, D. [1966] The inhibition of mammalian mitochondrial NADH oxidation by chloramphenicol and its isomers and analogues. *Can. J. Biochem.* 46: 1003-1016.

Freeman, F.R., Salinas-García, R.F. y Ward, J.W. [1974] Sleep patterns in a patient with a brain stem infarction involving the raphe nucleus. *EEG*

Gadea-Ciria, M., Stadler, H., Lloyd, K.G. y Bartholin, G. [1973] Acetylcholine release within the cat striatum during the sleep wakefulness cycle. -- Nature 243: 518-519.

Godchaux, W., y Herbert, E. [1966] The effect of chloramphenicol in intact erythrocyte cells. J. Mol.-Biol. 21: 537.

Gordon, H.W. y Deanin, G.G. [1968] Protein synthesis by isolated rat brain mitochondria and synaptosomes. J. Biol. Chem. 243: 4222.

Hernández-Peón, R., Chavez-Ibarra, G., Morgane, P.J. y Timofarica, C. [1963] Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotional behavior. Exp. Neurol. 8: 93-111.

Hernández-Peón, R. [1963] Sleep induced by localized electrical or chemical stimulation of the forebrain. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. -- Suppl. 24: 188-198.

Hess, W.R. [1931] Le Sommeil. C.R. Soc. Biol. (Paris) 107: 1355-1360.

Jalowiec, J.E., Morgane, P.J., Stern, W.C., --
Zolovick, A.J. y Panksepp, J. [1973] Effects of --

midbrain tegmental lesions on sleep and regional -
brain serotonin and norepinephrine level in cats. --
Exp. Neurol. 41: 670-682.

Jasper, H.H. y Tessier, J. (1971) Acetylcholine -
liberation from cerebral cortex during paradoxical -
(REM) sleep. Science 172: 601-602.

Jouvet, M., Sobillier, P., Pujol, J. y Renault, -
J. (1966) Effets des lésions du système du raphé sur
le sommeil et la sérotonine cérébrale. C.R. Soc. -
Biol. (Paris) 160: 2343-2346.

Jouvet, M. (1969) Biogenic amines and the states
of sleep. Science. 163: 32-41.

Jouvet, M. (1967) Neurophysiology of the states -
of sleep. Physiological Reviews. 47: 117-176.

Kitahama, K. y Valtx, J.L. (1975) Effets du -
chloramphénicol et du thiamphénicol sur le sommeil -
de la souris. C.R. Soc. Biol. (Paris) 169: 1522-
1524.

Koe, B.K. y Weissman, A. (1966) p-chlorophenyla -
lanine, a specific depletor of brain serotonin. J. -
Pharmac. Exp. Ther. 154: 499-516.

Koella, W.P. y Czieman, J.S. (1966) Mechanism of
the EEG synchronizing action of serotonin. Am. J.

Physiol. 211: 926-934.

Koolla, W.P., Feldstein, A. y Cricman, J.S. -
[1968] The effect of para-chlorophenylalanine on -
the sleep of cats. Electroenceph. Clin. --
Neurophysiol. 25: 481-490.

Kroll, F.W. [1933] Verber das Vorkommen von --
Übertragbaren schlaf erzeugenden Stoffen im hirn --
schlafendertiere. Ges. Neurol. Psychiat. --
146: 208-218.

Legendre, R. y Pieron, H. [1910] Le probleme de -
facteurs du sommeil. Resultats d'injections vascu -
laires et intracerebrales des liquides insomniques. -
C.R. Soc. Biol. (Paris) 68: 1077-1079.

Monnier, M., Koller, T. y Graber, S. [1963] --
Humoral Influences of induced sleep and arousal -
upon electrical brain activity of animals with --
crossed circulation. Exp. Neurol. 8: 264-277.

Monnier, M. y Hosli, L. [1964] Dialysis of --
sleep and waking factors in blood of the rabbit. --
Science. 146: 796-798.

Monnier, M. y Hosli, L. [1965] Humoral Trans -
mission of sleep and wakefulness II. Hemodialysis -
of a sleep inducing humor during stimulation of the
thalamic somnogenic area. Plug. Arch. 282: 60-75.

Monnier, M. y Hatt, A.M. (1971) Humoral transmission of sleep V. New evidence from production of pure sleep hemodialysate. Pflug. Arch. 329: 231-234.

Monnier, M. y Schoenenberger, G. (1974) Neurohumoral coding of sleep by the physiological sleep factor delta. En: Neurohumoral coding of brain functions, pp. 207-232. Ed. R.D. Myers and R.R. Drucker Colln. New York: Plenum Press.

Moruzzi, G. y Magoun, H.W. (1949) Brain stem reticular formation and activation of the EEG. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 1: 455-473.

Moruzzi, G. (1962) The midpontine pretrigeminal cat. Arch. int. Pharmacodyn. 140: 227-230.

Mouret, J.R., Bobillier, P. y Jouvet, M. (1968) Insomnia following parachlorophenylalanine in the rat. Eur. J. Pharmac. 5: 17-22.

Nagasaki, H., Iribi, M. y Uchizeno, K. (1976) Inhibitory effect of the brain extract from sleep-deprived rats (BE-SDR) on the spontaneous discharges of crayfish abdominal ganglion. Brain Res. 109: 202-205.

Nauta, W. (1946) Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. J. Neurophysiol. -

Rechtschaffen, A. y Kales, A. (1968) Manual of Standardized Terminology Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects. National Institutes of Health Publication No. 204 Washington, - Superintendent of Documents. Book 1-62.

Rojas-Ramírez, J.A., Gómez-Guzmán, H.C. y Velasco Ariz, V. (1974) Sueño provocado por perfusión de la región preóptica en el gato. Res. 17ª Congr. Nac. - Cienc. Fisiol., pp 66. Ixtapan de la Sal, Mex.

Rojas-Ramírez, J., Aguilar-Jiménez, E., Posadas Andrews, A., Bernal-Pedraza, J. y Drucker-Collín, R. (1977) The effects of various protein synthesis -- inhibitors on the sleep-wake cycle of rats. Psychopharm. 53: 147-50.

Roth, G.I., Walton, P.L. y Yamamoto, W.S. (1970) Area postrema abrupt EEG synchronization following close intraarterial perfusion with serotonin. Brain Res. 23: 223-233.

Schendorff, J.G. e Ivy, A.C. (1939) An examination of the hypnotoxin theory of sleep. Amer. J. Physiol. 125: 191-205.

Torda, C. (1968) Effect of changes of brain nor - epinephrine content on sleep cycle in rat. Brain - Res. 10: 200-207.

Vásquez, D. (1964) The binding of chloramphenicol by ribosomes from *Bacillus megaterium*. Res. Comun. 15: 464.

Vásquez, D. (1966) Binding of chloramphenicol to ribosomes. The effect of a number of antibiotics. - Biochem. Biophys. Acta. 114: 277.

Weisberg, A.S. y Wolfe, S. (1964) Effect of chloramphenicol on protein synthesis. Fed. Proc. 23: 976-983.

Weitzman, E.D., Rapport, M.M. y Mc. Gregor, J.J. (1968) Sleep patterns of the monkey and brain serotonin concentrations: effect of p-chloramphenylalaline. Science. 160: 1361-1363.

Zetler, G. (1976) The peptidergic neuron: a working hypothesis. Biochem. Pharmacol. 25: 1817-1818.