

130
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANALISIS COMPARATIVO DE LOS EFECTOS
AGUDOS DEL AC. KAINICO EN EL AREA X Y EL
CAMPO TEGMENTAL GIGANTO-CELULAR SOBRE
LA ACTIVIDAD PONTO-GENICULO-OCCIPITAL
(PGO), EN EL GATO RESERPINIZADO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A

ADRIANA MORA CUEVAS

MEXICO, D. F.

1987



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 está 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

	PAGINA
1.0. RESUMEN	1
2.0. INTRODUCCION	4
3.0. FUNDAMENTOS TEORICOS	9
3.1. GENERALIDADES DEL CICLO VIGILIA-SUEÑO	9
3.1.1. Vigilia	9
3.1.2. Sueño	12
A) SUEÑO DE ONDAS LENTES (SOL) ...	13
B) SUEÑO PARADOJICO (SP) O CON MO- VIMIENTOS OCULARES RAPIDOS (MOR)	16
i) Fenómenos Tónicos	23
ii) Fenómenos Fásicos	25
3.2. ACTIVIDAD PONTO-GENICULO OCCIPITAL (PGO) ...	29
3.2.1. Aspectos Cuantitativos de la Activi- da PGO	30
3.2.2. Actividad PGO y Potenciales de Mov- miento Ocular	32
3.2.3. Generación y Propagación de la Acti- vidad PGO	34
3.2.4. Actividad PGO-Reserpina	37

	PAGINA
3.3. ASPECTOS TEORICOS DEL ACIDO KAINICO (AK) ...	41
3.3.1. Consideraciones Prácticas en la Ad- ministración del AK	43
i) Estabilidad de la Solución	44
ii) Efecto de la Concentración y Ve- locidad de Inyección del AK ...	44
3.3.2. Utilidad del AK	45
3.3.3. Posibles mecanismos de Neurotoxici- dad para el Ac. Kaínico	48
4.0. PROBLEMA	52
5.0. HIPOTESIS	53
6.0. OBJETIVOS	54
7.0. MATERIAL Y METODOS	55
7.1. MATERIAL BIOLÓGICO	55
7.2. ELECTRODOS Y AREAS DE IMPLANTACION	55
7.3. PREPARACION EXPERIMENTAL	56
a) Calibración	56
b) Intervenciones Quirúrgicas	58
- Anestesia y Venodisección	58
- Cistostomia	58
- Traquetomia	60

	PAGINA
c) Montaje del Animal	60
d) Craneotomia	61
e) Implantación de Electrodo y Cánulas ..	61
f) Equipo Electrónico de Registro	62
g) Sistema de Microinyección	62
h) Perfusión y Análisis Histológico	65
i) Análisis de Resultados	67
 8.0. RESULTADOS	 68
 8.1. MICROINYECCION DE VEHICULO Y AC. KAINICO EN EL AREA X (GRUPO I)	 68
8.1.1. Vehículo	68
8.1.2. Ac. Kainico	69
8.1.3. Análisis Histológico	72
8.1.3.1. Sitios de Microinyección- de Ac. Kainico en el Area X	 72
a) Sitios bilateralmente- localizados en área X	72
b) Sitios unilateralmente localizados en área X	75
 8.2. MICRONYECCION DE VEHICULO Y AC. KAINICO EN- EL CAMPO TEGMENTAL GIGANTO-CELULAR (FTG) -- (GRUPO II)	 79
8.2.1. Vehículo	79
8.2.2. Ac. Kainico.....	81

	PAGINA
8.2.3. Análisis Histológico	83
8.2.3.1. Sitios de Microinyección - de Ac. Kainico en el FTG .	83
a) Subgrupo bilateralmente situado en FTG	83
b) Subgrupo fuera de FTG .	86
8.2.3.2. Efectos del Ac. Kainico a- Distintos Niveles del FTG.	87
a) Ac. Kainico a Nivel del VI par	88
b) Ac. Kainico en FTG cau- dal	88
8.2.3.3. Sitios de Microinyección - de Vehículo en el FTG	92
a) Sitios bilateralmente - localizados en FTG	92
b) Sitios unilateralmente- localizados en FTG	94
8.2.4. Comparación de los Efectos Provo- cados por el Ac. Kainico en el Area X y FTG	96

	PAGINA
9.0. DISCUSION Y CONCLUSION	100
9.1. AREA X.....	101
9.2. FTG	106
APENDICE	111
10.0. REFERENCIAS	114

1.0. RESUMEN

La actividad PGO es un fenómeno fásico característico del sueño paradójico. A partir de su descubrimiento (Jouvet y col., 1959) han surgido una serie de hipótesis para determinar el generador de dichos potenciales; entre estas hipótesis destacan la de Hobson y col. (1974) quienes proponen al campo tegmental giganto-celular (FTG) como generador y más recientemente Sakai (1980; 1985) postula a la región dorso-lateral de la formación reticular pontomesencefálica como posible región generadora de estos potenciales. Sakai denomina a esta región como área X (AX). Con el fin de valorar si el AX es la región generadora se aplicó Ac. Kainico (AK) el cual es un potente aminoácido neuroexcitotóxico análogo del glutamato, que actúa a nivel de somas respetando vías de paso. Teniendo en cuenta su propiedad excitadora y no la de lesión, se aplicó en el AX de gatos reserpinizados y curarizados con el fin de activar las células de esta región, esperando como respuesta un incremento en la densidad (frecuencia/minuto) de espigas PGO. Asimismo, se aplicó AK en el FTG y vehículo en ambas regiones para contrastar los efectos sobre la actividad PGO. Un número total de 25 gatos pretratados con reserpina (1 mg/kg ip) fueron preparados para experimento agudo con respiración artificial y curarizados; se implantaron de manera bilateral electrodos en los geniculados, así como una cánula en el AX y FTG. Se tomaron 2 controles de 10 min y se procedió a inyectar 1 μ l de AK(5 nmoles/ μ l) en forma bilateral en el AX (6 gatos); treinta minutos después se registró la actividad PGO tomando muestras de 10 min cada hora en un período de 8 hrs. En las mismas condiciones se aplicó AK(5 nmoles/ μ l) en el FTG de 9 gatos. Tanto para el AX como para el FTG se utilizaron cinco gatos respectivamente para la administración de

vehículo, la cual se realizó en las mismas condiciones que para el AK. Al final de cada experimento, los gatos se perfundieron con solución salina seguida de formol al 10% para realizar el análisis histológico; finalmente se hicieron comparaciones pareadas de cada grupo contra su propio control (t de "student"), encontrándose que para los casos de vehículo no hubo cambios significativos. En el caso de AX el valor promedio de la densidad de PGO fue de 29 ± 3.3 ($\bar{X} \pm EE$) en situación de control y con la aplicación de AK fue de 25.60 ± 2.4 , esta disminución corresponde a un 12% siendo estadísticamente no significativa. Según el análisis histológico de esta región, 8 sitios de 4 gatos quedaron bilateralmente dentro de AX y los 2 restantes unilaterales; en ambos casos la densidad de PGO mostró disminuciones estadísticamente no significativas del 13.3% y del 9.1% respectivamente. En el FTG, la densidad media control fue de 23.41 ± 3.1 y con AK disminuyó en un 2% sin ser esta disminución significativa. De acuerdo al análisis histológico de esta región, se localizaron 10 sitios bilateralmente bien situados y 8 sitios fuera del FTG; en el primer caso se observó un incremento del 0.74% y en el segundo un decremento del 4% ambos estadísticamente no significativos. Por otro lado, la aplicación del AK en el FTG no produce cambios significativos en la actividad PGO si se analiza globalmente, pero si se analiza por sitios de inyección se observa un efecto de incremento (53.1%) a nivel del VI par (AP=6.5 P) y uno de disminución (66.11%) a nivel del FTG caudal (10-11 P) siendo ambos estadísticamente significativos (P 0.05). De lo anterior se concluye que la aplicación tópica de AK produce un efecto diferencial dependiente del sitio. Así, en el AX hay una disminución no significativa que se mantiene durante el tiempo analizado en este estudio (efectos agudos) sin encontrar supresión de las PGO (efectos de lesión). Ahora bien tomando en cuenta las propiedades excitadoras del AK y su acción sobre

los cuerpos neuronales, los resultados no apoyan la hipótesis propuesta por Sakai.

INTRODUCCION

El sueño es una función cerebral circadiana que se acompaña de inactividad, adopción de posturas características con atenuación en la reactividad a la estimulación externa y disminución de la actividad motora dirigida.

En la mayoría de los mamíferos es relativamente fácil distinguir estados de vigilia y de sueño. Sin embargo, conforme se desciende en la escala filogenética (reptiles, anfibios, peces) es más difícil identificar los estados de sueño.

Se ha observado que el paso de vigilia a sueño se acompaña de un decremento en la actividad corporal; esto llevó a pensar que el sueño era un estado provocado por fatiga, durante el cual el organismo descansaba, pues se producía una desactivación pasiva de vigilia.

Este concepto prevaleció durante siglos, no fue sino hasta principios del siglo XX cuando se pensó en el sueño como un estado activo; con base en el descubrimiento de ciertas estructuras inductoras del sueño. Actualmente se concibe como un estado cerebral heterogéneo resultante de la participación activa de áreas específicas del sistema nervioso.

De los estudios que permitieron dicho avance, se pueden mencionar la observación de pacientes con lesiones específicas del cerebro que presentaron anomalías en el sueño (Von Economo, 1929) y estudios de estimulación eléctrica en el cerebro de gatos que provocan la conducta típica de sueño estimulando el tálamo y en particular la masa intermedia (Hess, 1929).

En investigaciones electrofisiológicas sobre el sueño, Aserinski y Kleitman (1953) y Dement y Kleitman (1957a) identificaron un período de sueño con desincronización cortical y movimientos oculares rápidos que se presenta tanto en el hombre, como en todas las especies de mamíferos estudiadas e incluso en algunas aves y reptiles. A partir de esta observación, se reconocieron básicamente dos tipos de sueño: el sueño lento que se acompaña de ondas electroencefalográficas lentas de alto voltaje, disminución en la frecuencia respiratoria y cardíaca, y el sueño con movimientos oculares rápidos (MOR), también llamado sueño paradójico (SP), durante el cual ocurren las ensoñaciones.

En el sueño MOR, con excepción de la atonía de los músculos antigravitatorios, el resto del organismo parece sufrir una activación intensa, difícilmente conciliable con una función pasiva o de descanso: aparecen movimientos oculares rápidos similares a los de la vigilia, la frecuencia cardíaca y respiratoria se aceleran e irregularizan y la atonía muscular coexiste con activaciones bruscas de la musculatura.

En el sistema nervioso la activación es aún más evidente: la actividad eléctrica cerebral se desincroniza, aparece ritmo theta hipocámpico, la actividad neuronal de la corteza aumenta, alcanzando niveles similares o aún mayores que los de la vigilia. El metabolismo cerebral, el riego sanguíneo, la temperatura y el consumo de oxígeno se elevan a niveles semejantes a los de la vigilia.

Se ha observado que de 30 a 60 segundos antes y durante la fase de sueño paradójico en ratas, gatos y monos, aparece de manera fásica una actividad electrofisiológica en forma de espigas de alto voltaje (200 - 400 μ V), a nivel de la formación reticular pontina. Esta actividad propaga hacia diferen-

tes estructuras corticales y subcorticales de los sistemas oculomotor, visual y auditivo, entre otros. Debido a su distribución anatómica se le ha dado el nombre de actividad fásica "Ponto - Genículo - Occipital" (PGO).

Como se ha podido apreciar hasta aquí, en el SP se llevan a cabo procesos muy complejos. Con el objeto de obtener la máxima información de estos eventos y por consiguiente una mejor comprensión de lo que es el SP, surge la necesidad de realizar investigaciones de cada una de las manifestaciones del mismo, para posteriormente conjuntarlas y encontrar la mejor explicación del sueño como tal.

El presente trabajo, forma parte de una serie de estudios enfocados al conocimiento de la o las zonas generadoras de la actividad PGO y a las herramientas útiles para su estudio. La importancia de conocer el o los generadores de los potenciales PGO, nos permitirá entender el papel que tiene esta actividad dentro del SP, así como algunos mecanismos y funciones que pudieran tener en común.

En la última década se han realizado estudios anatómicos y fisiológicos en distintas regiones del tallo cerebral, donde por lesiones, estimulación o aplicación de fármacos se ha tratado de encontrar el posible generador de los potenciales PGO. Entre estos estudios destacan: a) Hobson y col., (1974a), McCarley y col., (1978) y Valleala y col. (1979) quienes reportan que las neuronas del brachium conjuntivum a nivel pontino y del campo tegmental gigante-celular (FTG), presentan descargas en forma de salvas que preceden o son simultáneas a los potenciales PGO del núcleo geniculado lateral (NGL), proponiendo a estas células como las generadoras de la actividad PGO; b) Por otro lado, Sakai y col., (1976; 1979), Saito y col., (1977), Sakai (1980) y Sakai y Jouvet (1980),

han demostrado que la lesión de los núcleos laterodorsalis tegmenti, parabraquial lateral, la parte rostral del locus caeruleus alfa y principalmente la lesión de una región situada rostral a estos núcleos, dorsal al brachium conjuntivum y ventral al núcleo cuneiforme, denominada "área X" (AX), suprime completamente la actividad PGO a nivel del NGL, proponiendo a esta región como la posible generadora de dicha actividad (Ver esquema de tallo cerebral para una mejor comprensión de las zonas).

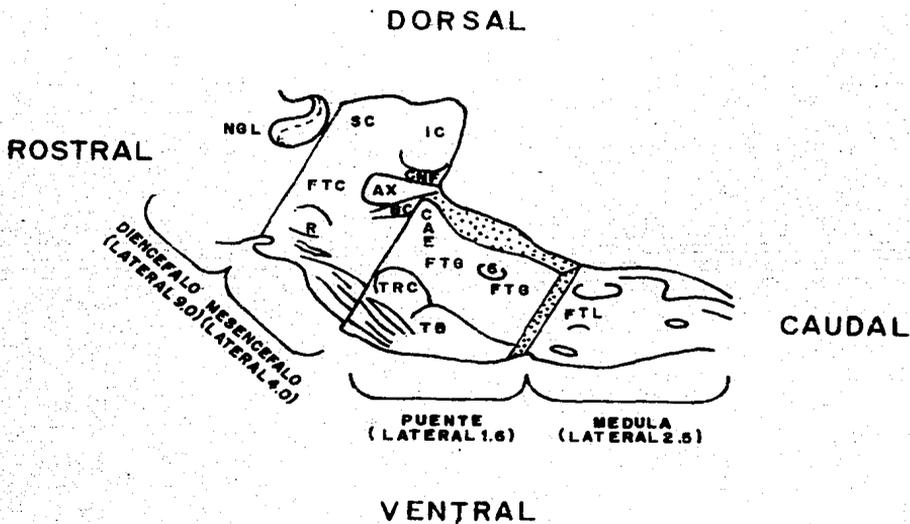


Fig. 1.- Esquema sagital del tallo cerebral del gato. NGL = núcleo geniculado lateral; SC = colículo superior; IC = colículo inferior; CNF = núcleo cuneiforme; AX = área X; CAE = locus caeruleus; BC = brachium conjuntivum; FTG = campo tegmental gigante-celular; 6 = núcleo abducens o VI par; R = núcleo rojo; FTC = campo tegmental central; TRC = división central núcleo reticular tegmental; TB = cuerpo trapezoide; FTL = campo tegmental lateral (Según atlas de Berman, 1968).

El objetivo de este trabajo es analizar comparativamente los efectos agudos del Ac. Kaínico en el área X y el FTG sobre la actividad PGO. Uno de los animales más empleados en la investigación del sueño es el gato, ya que el sueño de ondas lentas y el sueño paradójico son fácilmente distinguibles. Para la realización de ~~esta tesis se utilizaron~~ gatos adultos reserpinizados y curarizados a los cuales se les administró Ac. kaínico con el fin de activar los cuerpos neuronales de cada región. Se eligió el Ac. Kaínico por ser un potente aminoácido neuroexcitotóxico, análogo al glutamato (Glu) y por tener la particularidad de actuar a nivel de somas respectando vías de paso.

La forma en la cual se ha estructurado esta tesis es la siguiente: consta de una revisión bibliográfica dividida en tres capítulos; en el primero, se presenta una breve revisión de las estructuras anatómicas relacionadas con el sueño así como aspectos generales de neurofisiología y neuroquímica del sueño; en el segundo capítulo se presenta una revisión de la actividad PGO, por ser el tema que se estudia y en el tercero se presentan aspectos teóricos del Ac. Kaínico en donde se resume su importancia y características como herramienta en la neurobiología. A continuación se plantea el problema y la hipótesis que guía el trabajo experimental seguida de los objetivos. Más adelante se describe el Material y Método utilizado para la realización del trabajo y los resultados obtenidos. Finalmente se plantea la discusión, conclusión y un apéndice referente a las abreviaturas más utilizadas en este trabajo.

3.0 FUNDAMENTOS TEORICOS

3.1. GENERALIDADES DEL CICLO VIGILIA - SUEÑO

El ciclo vigilia-sueño es un fenómeno biológico exclusivo de las especies más evolucionadas del reino animal y se le considera dentro de los ritmos circádicos, es decir, tiene una ritmicidad aproximada de 24 horas.

Con el descubrimiento del electroencefalograma por Berger (1930) se abrió una nueva era en el estudio del ciclo vigilia-sueño, pudiéndose establecer una estrecha correlación entre los patrones electroencefalográficos y las diferentes fases del sueño y la vigilia (Kleitman, 1929, 1957; Loomis y col., 1937; ver la revisión de Magoun, 1963). A continuación se describen brevemente las fases de este ciclo.

3.1.1. Vigilia

La vigilia es un estado cerebral que resulta de la activación de algunas áreas del sistema nervioso. Dentro de ellas se ha propuesto a la formación reticular del tallo cerebral como una de las más importantes en el control de la vigilia (Moruzzi y Magoun, 1949). Jouvét (1962; 1967) propone áreas diencefálicas inductoras de la actividad cortical rápida y señala que la hipótlamo posterior es una de las áreas extra-reticulares que juegan un papel importante en el mantenimiento del estado conductual de alerta.

El registro poligráfico de un sujeto relajado y con los ojos cerrados, pero que esté en vigilia, muestra un ritmo alfa de 8 a 13 cps., en la región parieto-occipital. En el

gato (Fig. 2), el estado de alerta muestra una actividad eléctrica cortico-subcortical con frecuencias rápidas (20 a 30 cps.) de bajo voltaje (20 a 30 μ v).

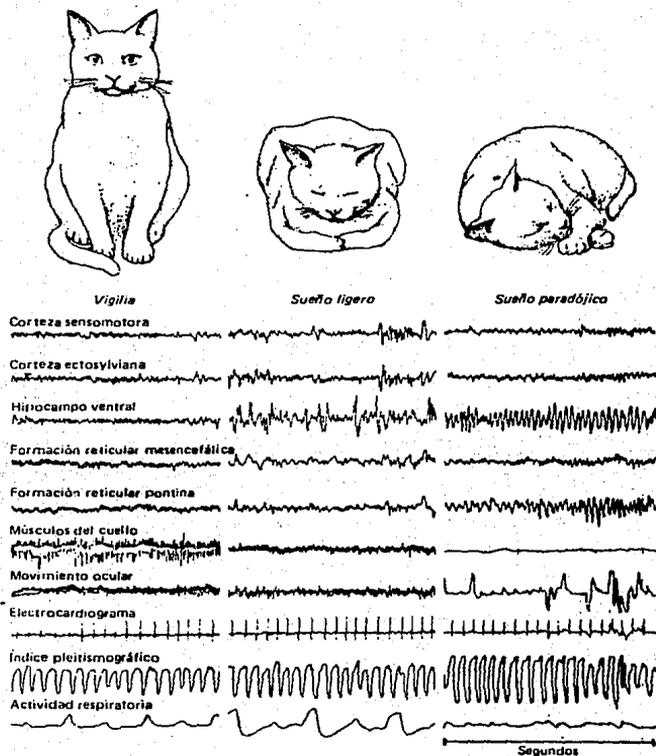


Fig. 2. Registro poligráfico de la vigilia, del sueño lento y del sueño paradójico en el gato. Obsérvese la semejanza entre el registro cortical durante la vigilia y el SP, así como la aparición de ritmo theta hipocámpico, de la actividad típica del puente, de la pérdida del tono muscular, la presencia de MOR e irregularidad de las frecuencias cardíaca y respiratoria durante este último. (Tomada de Jouvet, 1967).

El tono muscular en la vigilia con atención es amplio y conductualmente existen manifestaciones somáticas y vegetativas características del estado de actividad, como relajación pupilar y contracción de las membranas nictitantes (Jouvet, 1967). Sterman y col., (1965) determinaron un patrón de vigilia caracterizado por la sucesión de descargas de alta frecuencia en el bulbo olfatorio sobreimpuesto a ondulaciones rítmicas lentas, estas actividades están relacionadas con algunos aspectos propios del estado de actividad como son la respiración, olfacción, cambios de posición del animal. En estado de vigilia el 10% del tiempo puede ser utilizado para actividad general, el 31% para la vigilia con reposo, el 10% para las funciones vitales y el resto para el sueño (Sterman y col., 1965).

Las regiones capaces de alterar la vigilia o el sueño, ya sea por estimulación o por lesión, son numerosas, e incluyen el tallo cerebral, tálamo, hipotálamo, región prepóptica, banda diagonal de Broca y la corteza cerebral. En la vigilia, experimentos de secciones practicadas a diferentes niveles del tallo cerebral, sección mesodiencefálica, sección pontomesencefálica o prepontina (Moruzzi, 1964) y hemisección pontomesencefálica (Rossi y col., 1963) permiten localizar una zona responsable del alertamiento fásico a nivel mesencefálico y otra responsable del mantenimiento tónico de la vigilia en la región rostral del puente.

La lesión de la parte rostral del núcleo reticularis pontis oralis suprime el estado de alerta conductual o electroencefalográfico; el sueño lento ocupa el 80% del tiempo y el sueño paradójico el 20% restante, por lo que la parte rostral de este núcleo parece ser esencial para el mantenimiento de la vigilia (Jouvet, 1962). Este mismo efecto ha sido reportado por Camacho-Evangelista y Reinoso Suárez (1964). Por otro lado, de acuerdo con los resultados de la gran cantidad

de investigaciones realizadas con el objeto de establecer una relación entre los diversos neurotransmisores y la vigilia, los más involucrados son la norepinefrina (responsable de la activación electroencefalográfica tónica), la dopamina (responsable de la activación conductual) y la acetilcolina (responsable de la activación local de la corteza) (Ver referencia en Jouvét, 1972 y Wauquavier y cols., 1985).

3.1.2. Sueño

Con los descubrimientos de Aserinsky y Kleitman (1953) Dement y col., (1957 b) y Jouvét y col., (1959) de que las fases del sueño de ondas lentas de alto voltaje, eran interrumpidas periódicamente por episodios del sueño caracterizados por una actividad electroencefalográfica rápida y de bajo voltaje, movimientos oculares rápidos y relajación muscular, se estableció la existencia de una alternancia periódica entre el sueño de ondas lentas y el sueño paradójico.

Estos hallazgos acabaron con el concepto antiguo de que el sueño era un fenómeno homogéneo y pasivo, demostrándose que es un fenómeno activo resultante de la interacción dinámica entre diversas áreas corticales y subcorticales del sistema nervioso central.

En condiciones de laboratorio, la duración del sueño en el gato es aproximadamente de 16 horas, con predominancia de sueño en el día (Fourré, 1974). Los valores promedio del EEG en 24 horas son: vigilia 31% y sueño 69%, subdividido en sueño de ondas lentas 55% (somnia 18%; sueño de ondas lentas 37%) y sueño MOR 14% (Lucas, 1978).

A continuación se revisará brevemente algunas características del sueño de ondas lentas y del sueño paradójico.

A) SUEÑO DE ONDAS LENTAS (SOL)

A este estado se le conoce también como sueño sincronizado, sueño de ondas lentas (SOL), sueño lento, sueño quieto o sueño de no movimientos oculares rápidos (NMOR); estos nombres están basados en las principales características tanto conductuales como eléctricas que presenta. Durante el SOL, el EEG es dominado por ondas de gran amplitud; se registra un decremento con respecto a la vigilia en diferentes parámetros fisiológicos como las frecuencias cardíaca y respiratoria, la temperatura corporal y la presión sanguínea. Se ha sugerido que el sueño NMOR es un estado de recuperación.

En el hombre, se han descrito cambios electroencefalográficos concomitantes con los estados del SOL (fases I, II, III y IV) (Dement y Kleitman, 1957 b; Retschchaffen y col, 1968). Cuando el sujeto inicia el sueño, el ritmo alfa desaparece y se presenta una actividad de 5-7 cps (banda theta) de bajo voltaje, a esta etapa se le denomina fase I. Después de unos minutos aparece una actividad en forma de "huso" (14-16 cps), que alternan con frecuencias rápidas y aparecen potenciales de alto voltaje denominados complejos "K" o puntas del vértex. Concomitantemente el tono muscular disminuye y aparecen ondas lentas, esta imagen poligráfica corresponde a la fase II. La fase III se caracteriza por la presencia de actividad delta (0.5 - 3.5 cps) de alto voltaje, mezclada con frecuencias rápidas de bajo voltaje y una mayor relajación del tono muscular. La fase IV se caracteriza por actividad delta que se torna constante (más del 50%) y va acompañada de una actividad muscular disminuida. En la actualidad existe la tendencia a reunir la fase III y IV en una sola denominada delta. El sueño lento ocupa aproximadamente el 70% del tiempo total de registro poligráfico en humanos.

En el gato (Fig. 2), el sueño de ondas lentas solamente se divide en dos etapas. La fase I que se distingue por la aparición de husos del sueño (15-16 cps) mezclados con ondas lentas (3-4 cps) acompañándose de una estabilización y disminución del tono muscular en relación a la vigilia. La fase II, se caracteriza por la actividad delta (0.5-3.5 cps) y de alto voltaje, que a veces alterna con husos del sueño. En ocasiones durante esta fase se observa la aparición de fenómenos fásicos (actividad ponto-genículo-occipital, PGO), principalmente algunos segundos antes de la instalación del sueño paradójico. A estos períodos se les ha dado el nombre de SPOL (del francés: Sommeil Phasique a Ondes Lentas; Thomas y Benoit, 1967).

Conductualmente durante las fases del sueño de ondas lentas, el gato adopta la postura de "esfinge", manteniendo inicialmente la cabeza erguida, dejándola caer progresivamente, hay cierre palpebral y relajación de las membranas nictitantes (Jouvet, 1967). La actividad electroencefalográfica disminuye, se aprecia lentificación de las frecuencias cardíaca y respiratoria, además de una disminución de la temperatura y de la tensión arterial. No se producen movimientos oculares y la pupila está ligeramente miótica (Jouvet, 1962).

Los estudios del sustrato fisiológico del sueño de ondas lentas reportados por Jouvet (1972) implican dos regiones del tallo cerebral en el control tanto del sueño de ondas lentas como del sueño paradójico.

La región localizada en la línea media a lo largo del puente incluyendo los núcleos del rafe, parece desempeñar un papel decisivo en la instalación del sueño de ondas lentas. Las lesiones de esta región producen insomnio en el animal. Este sistema neuronal envía proyecciones hacia el sistema

reticular activador, el hipotálamo y las estructuras límbicas del prosencéfalo.

La hipótesis de Jouvet propone que la activación de los núcleos del rafe, inhiben el efecto de despertamiento del sistema reticular activador descrito por Moruzzi y Magoun (1949), permitiéndole al tálamo medial inducir los husos y ondas lentas corticales descritas por Hess (1944) y Purpura y col., (1966).

Nauta (1946) mostró que las lesiones de la región anterior del hipotálamo, en la región preóptica de la rata, provocaban un estado de insomnio que culminaba con la muerte de los animales. Más tarde, esto fue corroborado en gatos por McGinty y Sterman (1968). La región preóptica hipotalámica está conectada con el sistema del rafe por el haz medial del cerebro anterior. Las lesiones de la región anterior o preóptica del hipotálamo destruyen una proyección descendente de control hacia el sistema de rafe.

Por otro lado, se ha observado que un aumento en la actividad del sistema serotoninérgico provoca un aumento del SOL y una disminución de la cantidad de serotonina cerebral lo reduce o suprime en su totalidad.

Otros trabajos experimentales que también apoyan la participación de los sistemas serotoninérgicos del tallo cerebral, en la instalación y mantenimiento de los diferentes estados del sueño, es la inhibición de la triptofano hidroxilasa (enzima que interviene en la síntesis de serotonina) mediante la administración de paraclorofenilalanina (PCPA), la cual provoca un estado de insomnio que es fácilmente reversible al administrar dosis bajas de DL-5-hidroxitriptofano (Delorme y col., 1966; Renault, 1967; Pujol y col., 1971; Jouvet, 1972).

B) SUEÑO PARADOJICO (SP) CON MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS (MOR)

Aserinsky y Kleitman (1953) describieron la aparición de períodos de movimientos oculares rápidos al estudiar el sueño en niños; extendieron estas observaciones en el adulto aunadas a la técnica de registros poligráficos de toda la noche, mostrando que estos períodos aparecían de 4 a 5 veces durante la noche, de manera cíclica y que además se acompañaban de una actividad electroencefalográfica rápida y de bajo voltaje. También, señalaron que cuando un sujeto era despertado durante esta fase del sueño, reportaba estar soñando, mientras que en otras etapas no refería actividad onírica. Esta fase ha sido denominada en muchas formas, Dement (1958) lo llamó sueño activo; Jouvet (1967) lo llama fase romboencefálica o sueño paradójico; para Hartman (1967) estado D, también es conocido como sueño con actividad rápida de bajo voltaje o sueño con ensoñaciones.

Hartman (1967) analizó la duración de los ciclos MOR en diferentes animales, encontrando que aumentaba en relación al tamaño del animal e inversa a la tasa metabólica. Encontró así que el ciclo dura unos 4 minutos en el ratón, de 7 a 13 en la rata, de 24 en el conejo, de 20 a 40 en el gato, de 40 a 60 en el mono, de 80 a 90 en el hombre y unos 120 minutos en el elefante.

Jouvet y col., (1959) demostraron que el sueño paradójico en el gato se acompaña de una atonía de los músculos antigravitatorios, que en ocasiones se ve interrumpida por contracciones físicas de muy corta duración. Esta atonía muscular se presenta en todos los mamíferos incluyendo al hombre.

Durante todo el sueño paradójico también se han des-

crita variaciones de algunas funciones vegetativas, tales como: frecuencia cardiaca (Aserinsky y Kleitman, 1953; Kamiya, 1961; Snyder y col., 1964; Calvo y col., 1973) frecuencia respiratoria (Snyder, 1965; Jouvet y col., 1960; Kamiya, 1961; Shapiro y col., 1964), respuesta galvánica de la piel (Kamiya, 1961; Hawkins y col., 1962) y erección del pene (Fisher y col., 1965).

En el gato (Fig. 2), el sueño paradójico se caracteriza por frecuencia rápidas (más de 20 Hz) en la corteza cerebral, movimientos oculares rápidos (60-70 por minuto) y la abolición del tono muscular en los músculos antigravitatorios de la nuca. Conductualmente, como se observa en la figura 2, durante el sueño paradójico el animal se encuentra yaciendo de costado, con la cabeza descansando sobre el suelo, o en forma de ovillo con la cabeza apoyada sobre las patas delanteras y se puede observar la aparición de fenómenos fásicos que consisten en movimientos oculares rápidos en sentido horizontal, vertical u obliquo, que se acompañan de miosis acentuada interrumpida en ocasiones por midriasis. Aparecen movimientos rápidos de las orejas, de las vibrisas y de las extremidades. La respiración se vuelve irregular y con períodos cortos de apnea; el sueño paradójico ocupa alrededor del 15% al 30% del tiempo total de registro, también dependiendo de la duración total de éste (Jouvet, 1965 c; Tanaka, Langue y Naquet, 1975), la duración promedio de cada fase es de aproximadamente 6 minutos.

Desde el punto de vista ontogenético el sueño paradójico es precoz ya que aparece "in ovo" (Klein, 1963) e "in útero" (Astic y Jouvet-Mounier, 1969) y en las especies donde se presenta, los animales más jóvenes permanecen en esta mucho más tiempo que los adultos, así tenemos que los niños de 2 a 4 años duermen en MOR de 25 a 30% y los recién nacidos pasan

más del 50% de su sueño en esta fase (Dreyfus-Brisac, 1964). Por otra parte, los niños de más de 5 años y los adolescentes, tiene cifras de MOR en todo semejantes a las del adulto, el cual pasa en MOR el 20% del tiempo total de sueño; a medida que se avanza en edad el MOR disminuye ligeramente llegando hasta un 15%.

Filogenéticamente, la investigación de la fisiología comparada del sueño en los diferentes grupos de vertebrados es relativamente reciente y los datos aportados por los diferentes autores son en general escasos y no del todo convincentes (Melesio y col., 1983).

Hasta el momento, se ha demostrado plenamente la presencia de sueño en sus dos fases en todos los vertebrados homeotermos (Melesio y col., 1983) estudiados y en los reptiles se ha demostrado la presencia de ciertos elementos de lo que bien pudieran ser las manifestaciones primitivas del sueño paradójico de las aves y de los mamíferos (Huntley y col., 1977; Karmanova y col., 1978; Ayala, 1980), aunque los estudios realizados en este grupo de vertebrados poiquilotermos son pocos y discutidos (Malesio y col., 1983).

Tanto a nivel neurofarmacológico como a nivel neurofisiológico el sueño paradójico parece ser el resultado de una sucesión de eventos que incluyen mecanismos serotoninérgicos preparativos y mecanismos catecolaminérgicos y colinérgicos de instalación y mantenimiento.

En condiciones normales, el sueño paradójico siempre está precedido por las fases del sueño de ondas lentas. La inhibición de la síntesis de serotonina (5-HT) por la administración de para-clorofenilalanina (PCPA), provoca una disminución importante del sueño de ondas lentas y del sueño paradójico.

co. Habitualmente el sueño paradójico desaparece cuando la cantidad diaria de sueño de ondas lentas, disminuye por debajo del 15% (Koella y col., 1968; Jouvet, 1969; Dement y col., 1970).

Durante la recuperación del sueño de ondas lentas y sueño paradójico que sigue al insomnio provocado por la PCPA, existe una correlación entre el aumento de los niveles endógenos de 5-HT en el tallo cerebral (Mouret y col., 1968). Es interesante que la duración promedio de los episodios del sueño paradójico esté inversamente relacionada con los niveles de 5-HT (Jouvet, 1972).

También existen datos experimentales que sugieren la participación de mecanismos colinérgicos en la instalación del sueño paradójico. La inyección local de carbacol en la vecindad del locus caeruleus o en el cuarto ventrículo, aumentan considerablemente la duración del sueño paradójico (George y col., 1964) o induce solamente una atonía total (Baxter 1968, 1969). Esto sugiere que la región caudal del locus caeruleus encargada de la atonía muscular posee mecanismos tanto catecolaminérgicos como colinérgicos. A partir de éstos resultados se ha propuesto que la acetilcolina juega un papel en los componentes tónicos del sueño paradójico y que se encuentra involucrada en un paso intermedio entre los mecanismos serotoninérgicos y los mecanismos catecolaminérgicos del sueño paradójico.

Drucker-Colín y col., (1970; 1973; 1974) utilizando sistemas de cánula "push-pull" para obtener perfusados de la formación reticular mesencefálica durante el sueño de gato, han encontrado una relación directa entre la aparición del sueño paradójico y un aumento de proteínas que pueden jugar un papel en la instalación de esta fase. Por lo tanto, los

agentes involucrados en el SP son: la serotonina, las catecolaminas (noradrenalina y dopamina), la acetilcolina y finalmente algunos agentes de naturaleza protéica.

En cuanto a la neuroanatomía del sueño paradójico, se ha mostrado que cada una de las manifestaciones del sueño MOR es generada por distintos grupos celulares del tallo cerebral los cuales a continuación se mencionarán brevemente.

- Desincronización cortical. Aunque estudios tempranos indicaron un papel para los grupos celulares pontinos en la inducción de la desincronización cortical del MOR - por ejemplo, *pontis caudalis* (Jouvet, 1962), *pontis oralis* (Carli y Zanchetti, 1965) y *locus caeruleus* (Jouvet, 1969; 1972) - estos hallazgos no han sido confirmados por reportes subsecuentes (Hobson y col., 1975; Foote y col., 1980; Aston-Jones y Bloom, 1981 a, b). Recientemente Steriade y colaboradores (Steriade y col., 1982) registrando la formación reticular mesencefálica (la que da lugar a un EEG activado en los estudios originales de Moruzzi y Magoun, 1949) describieron una población de células que juegan un papel importante en la desincronización cortical de vigilia y MOR. Estas células descargaron en tasas tónicas altas en asociación con la desincronización del EEG cortical tanto durante la vigilia como en el MOR. La región del cerebro medio implicada en la desincronización cortical está representada en la Fig. 3.

- Ritmo theta hipocampal. En una revisión reciente hecha por Vertes (1982) se enlistan 24 estudios separados mostrando que la estimulación de la formación reticular induce un ritmo theta en el hipocampo. En base a 2 reportes recientes del mismo Vertes (1980; 1982) en donde por estimulación fueron mapeados sistemáticamente el tallo cerebral y el diencefalo del cerebro medio caudal de la rata, se concluyó que el núcleo

pontis oralis era la región de la formación reticular más efectiva para inducir theta. Asimismo, éste núcleo fue encontrado como un sitio generador muy efectivo de theta en el gato (Macadar y col., 1974).

- Atonía Muscular. En contraste a estudios iniciales (Jouvet y Delorme, 1965; Roussel y col., 1967; Jouvet, 1972) en los que se sugiere al locus coeruleus como el principal núcleo del tallo cerebral involucrado en la atonía del MOR, reportes posteriores (Henley y Morrison, 1974; Sastre y col., 1978; Sakai, 1980; Fung y col., 1982; Hendricks y col., 1982) identifican al sitio crítico para la atonía en la parte dorso-lateral del núcleo pontis oralis la cual ha sido designada como área peri-LC por Sakai (1980).

- Espigas PGO. Las ondas PGO se originan en el tegmento pontino dorsolateral en una región que bordea el brachium conjuntivum (BC) en la rata (Gottesman, 1969; Faber y col., 1980; Marks y col., 1980 b; Kaufman y Morrison, 1981) y en el gato (Brooks y Bizzi, 1963; Brooks y Gershon, 1971; Laurent y Guerrero, 1975; Sakai y col., 1976; Bowker y Morrison, 1976 a; Bowker, 1979). Las neuronas asociadas a la actividad PGO han sido descritas en la región del BC (Saito y col., 1977; McCarley y col., 1978; Sakai y Jouvet, 1980; Sakai, 1980; Nelson y col., 1983). La mayoría de estas neuronas parecen estar localizadas en el área X, dorsolaterales al BC (Sakai, 1980) pero también se han identificado en la porción rostral del núcleo para branquial lateral y el núcleo tegmental dorsolateral (Saito y col., 1977; Sakai y Jouvet, 1980; Sakai, 1980).

- Movimientos oculares rápidos. En estos estudios se ha mostrado que una clase de células designadas como neuronas "burst" (Salva excitadora), descargan grupos de potenciales

de acción con latencias cortas que preceden a los movimientos oculares horizontales, considerandolas como neuronas premotoras de los EMs horizontales rápidos (Sparks y Travis, 1971; Luschei y Fuchs, 1972; Keller, 1974; Henn y Cohe, 1976; Hikosaka y Kawakami, 1977; Hikosaka y col., 1978; Igusa y col., 1980; Curthoys y col., 1981; Kaneko y col., 1981). Estudios recientes en el gato (Igusa y col., 1980; Curthoys y col., 1981; Kaneko y col., 1981) han mostrado que las neuronas "salva" están concentradas en forma relativamente densa en la porción dorsomedial de la formación reticular pontina caudal, anterior al núcleo abducens (área peri-abducens; ver Fig. 3).

- Sacudidas musculares. Pompeiano y colegas demostraron en una serie de estudios (Marchiafava y Pompeiano, 1964; Gassel y col., 1964 a, 1965) que el sistema reticuloespinal y no otros tractos espinales descendentes era responsable de las sacudidas musculares del sueño MOR. En la rata en libre movimiento, Vertes (1977; 1979) identificó un tipo de células en la formación reticular pontomedular, designadas como neuronas MOV-MOR-fásicas. La mayoría de estas neuronas se han localizado en la región bulbo pontina de la formación reticular (Vertes, 1977; 1979; Siegel y col., 1977; 1983).

- Respuestas cardiorespiratorias. Aunque los mecanismos del sistema nervioso central controladores de las funciones respiratorias y cardiovasculares son complejos, hay evidencias sugiriendo que las fluctuaciones, cardiorespiratorias del MOR son mediadas en gran extensión por el complejo parabraquial medial, considerando el sitio del centro neumataxico (Bertrand y Hugelin, 1971; Cohen, 1971; St John y col., 1971; Bertrand y col., 1973; Knox y King, 1976). Mraovitch y col., (1982) demostraron que la estimulación restringida al complejo parabraquial indujo una elevación significativa en la presión sanguínea y ritmo cardiaco a lo cual llamaron respuesta preso-

ra parabraquial.

Todas las regiones antes mencionadas pueden ser localizadas en la Fig. 3, en donde se muestran sus posiciones relativas en el tallo cerebral.

- FENOMENOS TONICOS Y FENOMENOS FISICOS DEL SUEÑO PARADOJICO

La fase del sueño paradójico va acompañada de dos tipos de fenómenos que se distinguen neurofisiológica y poligráficamente de las otras etapas del sueño. Por sus características de producirse de manera continua o en episodios cortos se les ha llamado fenómenos tónicos a los primeros y fenómenos fásicos a los segundos.

i) FENOMENOS TONICOS

Se llaman fenómenos tónicos a los eventos electrofisiológicos que se presentan en forma continua durante toda la fase del SP, estos son: la atonía muscular y la actividad eléctrica rápida (20 - 30 cps) de bajo voltaje en regiones corticales, diencefálicas y mesencefálicas, semejantes a la activación cortical que acompaña al estado de hiperalerta o de atención, sin embargo, ciertas características hacen posible establecer una diferencia entre la actividad cortical del sueño paradójico y la del estado de alerta. Otro fenómeno tónico es la aparición de la actividad theta continua en las porciones dorsal y ventral del hipocampo, esta actividad theta es más regular y rápida (5-7 cps) y sobre todo con una distribución más amplia que la observada durante el estado de vigilia (en la región dorsal del hipocampo), la actividad theta de la región ventral, aparece en muy raras ocasiones durante la vigilia. También durante el sueño paradójico, se ha podido registrar actividad theta continua en la sustancia gris peria

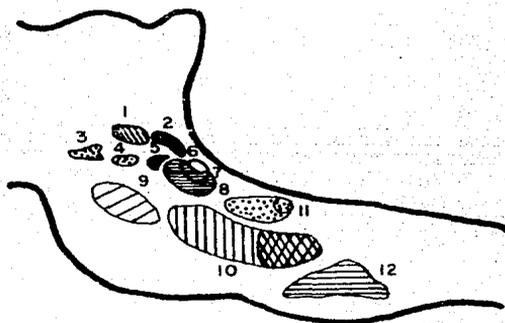
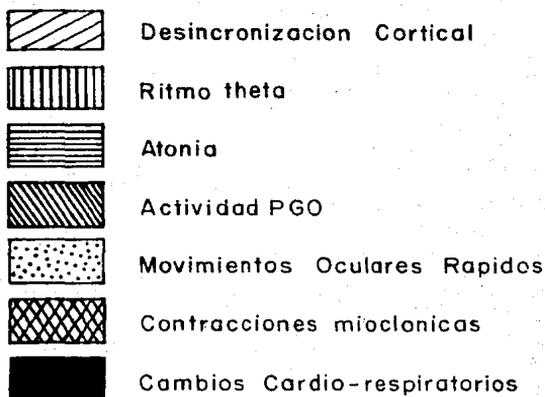


Fig. 3. Esquema de la sección parasagital del tallo cerebral del gato, se muestran las localizaciones de los grupos de células involucradas en el control de la mayoría de los eventos del sueño MOR. 1 = área X; 2 = núcleo parabraquial lateral; 3 = núcleo del tercer par y formación reticular mesencefálica para mediana; 4 = núcleo del cuarto par; y formación reticular mesencefálica paramediana; 5 = núcleo parabraquial medial; 6 = locus coeruleus; 7 = locus coeruleus alfa; 8 = peri locus coeruleus; 9 = formación reticular mesencefálica; 10 = FTG anterior o núcleo reticularis pontis oralis, y FTG posterior o núcleo reticularis pontis caudalis; 11 = VI par, región peribducens; 12 = formación reticular bulbar o núcleo magno-celular o región inhibidora bulbar.

cueductual, la región anterior del puente y en el área límbica mesencefálica (Jouvet, 1962; 1965).

ii) Fenómenos Fásicos

Son los fenómenos conductuales y electrofisiológicos, que se presentan en forma periodica repetitiva durante la fase del SP.

Los fenómenos fásicos que caracterizan al SP son: los movimientos oculares rápidos (MOR) y la actividad ponto-genículo-occipital (PGO).

- MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS

Estos movimientos se presentan después que otras manifestaciones de la fase del sueño paradójico, tienen una frecuencia de 60 a 70 movimientos por minuto y difieren de los movimientos oculares de la vigilia por su distribución temporal y su patrón de ocurrencia (Jeannerod y Mouret, 1963). Pueden presentarse en forma aislada, pero la manera más característica es en forma de salvar cortas de 5-10 movimientos, algunas salvas son prolongadas, de 50 movimientos aproximadamente. El número de movimientos en forma aislada o en salvas, ocupan cada uno el 50% del número total y es una constante para cada animal. Durante el sueño paradójico se puede apreciar una miosis acentuada y continua, pero ésta se ve interrumpida fásicamente por pequeñas midriasis que son concomitantes con los movimientos oculares y con retracciones fásicas de las membranas nictitantes (Berlucchi y col., 1964). La actividad PGO se verá con más detalle en el siguiente capítulo por ser el tema de estudio de ésta tesis.

En lo que respecta a la función del sueño, como señala

Karacan y col., (1976) es probable que el sueño cumpla, no una, sino varias funciones en la economía general del organismo.

A partir de 1953 con el descubrimiento de la fase MOR las teorías del sueño dejaron de ser globales. Entre las funciones del SP se consignan las compiladas por Hartman (1967) quien ordena las funciones del sueño paradójico desde las más fisicalistas hasta las de orden puramente psicológico:

- La función del SP es la de "limpiar" el sistema nervioso central de un metabolito endógeno, producto de su funcionamiento (Demet, 1964).

- La función del SP es la de proveer de una fuente endógena de estimulación a la corteza cerebral, que es necesaria para su desarrollo (Roffwarg y col., 1966). Esta hipótesis estaría de acuerdo con el hecho de que los bebés duermen más en SP que los adultos.

- Es SP reorganiza los patrones de descarga en las redes neuronales cerebrales, patrones que se desorganizarían durante el sueño de ondas lentas (Weiss, 1966). Esta teoría recuerda la de los engramas y empieza a ser un esbozo de la importancia del SP en los procesos de aprendizaje.

- El SP representa un período de recuperación de la "privación sensorial" que se establece durante la fase de ondas lentas. Constituye un mecanismo homeostático que reajusta los niveles necesarios de excitación (Ephron y col., 1965). Esta teoría es ampliada por Moruzzi (1972) considerando al SP como un acto instintivo y homeostático que aparece como consecuencia de la desactivación reticular.

- El estado del SP funciona para facilitar los despertares esporádicos durante el sueño, sirviendo al animal para que se reorienta con respecto al medio que lo rodea (Snyder, 1966). Weiss (1966) mantiene un punto de vista semejante. Esta hipótesis sobre la función del SP puede parecer a primera vista extraña, pues en esta fase el animal tiene una abolición casi completa del tono muscular y no le serviría, como afirma Snyder, para defenderse de sus depredadores. Pero es cierto que se han observado en muchas ocasiones breves despertares que siguen al SP y aunque el umbral para estímulos sensoriales no significativos está muy elevado, no lo está el que se refiere a estímulos con alto significado para el individuo, como el llanto de un bebé o el ruido de un animal peligroso. El umbral para estos estímulos se encuentra disminuido durante el SP.

- La función del SP sería descartar la información innecesaria y sin importar la acumulada durante el día "limpiando" los circuitos de la memoria para facilitar la llegada de la nueva información. Esta hipótesis ha sido expresada también por Newman y Evans (1965).

- Otras hipótesis sobre la participación en los procesos de memoria han sido más constructivas, atribuyendo a esta fase la transferencia de memorias de corto a largo plazo de almacenamiento (Greenberg y Leiderman, 1964). En la misma línea está la idea de Moruzzi (1972) de que el sueño general promueve la formación de "engramas".

- Se encuentran implicaciones psicoanalíticas en teorías como la de Fisher (1965), que afirma que el SP libera tendencias instintivas en una situación benigna (no se puede sin tono muscular).

Si se revisa detenidamente todas estas teorías compiladas por Hartman se constata que no se contraponen y muchas de ellas no son excluyentes en absoluto.

3.2. ACTIVIDAD PONTO-GENICULO-OCCIPITAL (PGO)

La primera descripción sobre la actividad PGO fue hecha por Jouvett y Michel (1959) al registrar la formación reticular pontina durante el SP, descubrieron la aparición de potenciales monofásicos de alto voltaje (200-300 μ v) y de larga duración (100 milisegundos), que ocurrían de manera aislada o en grupos. Estos potenciales también fueron registrados en el núcleo geniculado lateral (NGL) (Mikiten y col., 1961) y en la corteza occipital (Mouret y col., 1963). Debido a su distribución anatómica se le dio el nombre de actividad fáscica ponto-genículo-occipital (Jeannerod, 1965). Sin embargo, esto no implica que la actividad PGO solamente puede ser registrada en estos sitios, sino que aquí, es donde se manifiesta con mayor amplitud al ser registrada mediante macroelectrodos. La actividad PGO también es recogida, aunque con menor amplitud, con macroelectrodos en los núcleos del III, IV y VII pares craneales (Costin y Hafemann, 1970; Cespuliglio y Col., 1975; Roffwarg y col., 1979), el cerebelo (Jeannerod y col., 1965a), la corteza auditiva y el núcleo del V par craneal (Roffwarg y col., 1979) y en estructuras talámicas que incluyen el núcleo pulvinar, habénula, núcleo ventralis postero-medialis; núcleo centralis, lateralis y al núcleo lateralis posterior (Hobson, 1964). En estudios de actividad unitaria, se ha encontrado que son muchas las estructuras que se ven influenciadas por la actividad PGO. En el núcleo geniculado lateral y la corteza visual, la mayoría de las células se activan durante el primer componente del potencial (Valleala, 1967; Jeannerod y Putkonen, 1970; McCarley y Hobson, 1970). Aún más, en regiones donde los potenciales PGO no pueden ser registrados mediante macroelectrodos (en el tálamo o en las áreas de asociación), el 60% de las neuronas se ven facilita-

das o inhibidas durante la actividad PGO (Laurent y col., 1977).

Resulta difícil explicar desde que nivel de la escala filogenética aparecen las espigas PGO ya que la investigación de la fisiología comarada del sueño en los diferentes grupos de vertebrados es relativamente reciente y los datos aportados por los diferentes autores son en general escasos y no del todo convincentes. Hasta el momento se ha demostrado plenamente la presencia de sueño en sus 2 fases en todos los vertebrados homeotermos estudiados (Melesio y Ayala, 1983). Sin embargo las PGO han sido escasamente estudiadas desde un punto de vista filogenético. Esta actividad tiene características distintivas que hacen difícil definir en que animales se presentan y en cuales no. En el gato, donde más se ha estudiado este potencial, ha sido posible determinar algunas características que se mencionan a continuación.

3.2.1. Aspectos Cuantitativos de la Actividad PGO

En condiciones normales la actividad PGO nunca ocurre durante la vigilia; puede presentarse periódicamente durante la fase II del sueño de ondas lentas (fase SPOL) (Thomas y Benoit, 1967), en forma aislada y con una frecuencia promedio de 10 potenciales por minuto. La actividad PGO siempre precede a la desincronización cortical y a la atonía muscular del sueño paradójico por 30-60 segundos. Durante el SP aumenta su frecuencia a 70-90 potenciales por minuto. Los potenciales PGO pueden presentarse aislados (constituyendo el 23% del número total), en pares (que constituyen el 24%) y en salvas de más de 5 potenciales separados por intervalos de 100 mseg o menos, que constituyen el otro 53% del número total. La frecuencia promedio de estos potenciales es constante de una fase de SP a otra y no depende de la duración de dicha fase ni del

intervalo entre cada una.

Ontogenéticamente se ha podido estudiar el desarrollo evolutivo de las mismas en gatitos recién nacidos (Bowe-Anders y col., 1974). Así, se ha mostrado que las ondas PGO aparecen en NGL de los gatitos a la 3a. semana de vida postnatal. A partir de la aparición de los potenciales PGO, transcurre una semana para alcanzar la maduración casi completa en términos de frecuencia promedio durante el sueño MOR, incluso en términos de amplitud, duración y forma de la onda.

A la tercera semana de vida del gato, Jouvett y col., (1970) describieron la aparición de ondas lentas en la actividad cortical durante períodos de sueño tranquilo, así como una disminución en el tiempo de SP y una gran proporción de tiempo gastado en vigilia. En resumen, la tercera semana de vida en el gato ha sido descrita como un período crítico cuando el ciclo vigilia-sueño llega a ser más semejante al del adulto, en el cual, el número de potenciales PGO en 24 horas es muy constante ($13,000 \pm 1,500$). Esta "cuota diaria" de espigas PGO aparentemente es una constante biológica controlada por mecanismos regulatorios a largo plazo, pues cuando un animal es privado de SP durante 3 días, aparecen pocos potenciales durante el sueño de ondas lentas (700 cada 24 horas) y durante el rebote de SP de los dos días siguientes a la privación, las espigas PGO aparecen durante el sueño de ondas lentas y el SP con una frecuencia mayor y el déficit de PGO es recuperado en un 75-90%, tomando en cuenta la "cuota diaria" de 13,000 potenciales (Dusan-Peyrethon, 1967; Dement y col., 1970 a, b); en el gato las PGO son un signo útil y temprano del comienzo de los mecanismos que conducen al SP. Su ocurrencia indica que el organismo está entrando a una fase durante la cual la mayoría de las estructuras cerebrales sufren un cambio en su actividad.

En el primate, durante el sueño MOR se ha evidenciado una actividad similar a las espigas PGO, a nivel del NGL (Periáchio, 1973). La ocurrencia sucesiva de los diferentes criterios del SP siguen la misma secuencia en el gato y en el mono. A nivel cortical, el registro de las ondas PGO parece ser más problemático, esto podría depender de la especie: las ondas han sido observadas en babuinos, pero no claramente en macacos. Las ondas PGO probablemente están confinadas a la corteza visual primaria y por eso se dificulta el registro, ya que están involucrados problemas de alcance de la profundidad del sulcus calcarino. Sin embargo, a nivel de esta estructura se han observado ondas corticales del mismo tipo que las PGO del gato durante el SP en el hombre (Salzarulo y col., 1975).

Los potenciales PGO también se han registrado en ratas (Cespuglio y col., 1977; Farber y col., 1980; Kaufman y Morrison, 1981) y en el cobayo (Pellet y col., 1974). A partir de estos trabajos se ha observado que la actividad PGO tiene patrones y frecuencias diferentes en cada especie.

3.2.2. Actividad PGO y Potenciales de Movimiento Ocular

Durante la vigilia aparece una actividad muy similar a las PGO que acompaña a los movimientos oculares de observación. Con base en esto se pensó que ambas actividades podrían ser la consecuencia de una estimulación sobre la retina o el NGL procedente de la periferia.

Brooks y Gershon (1971) realizaron un estudio con el propósito de determinar si se trata o no del mismo fenómeno y encontraron que existen diferencias fundamentales entre ambas:

- Desde el punto de vista electrofisiológico.- El voltaje de las espigas corticales que aparecen durante la vigilia está modulado por la intensidad de la iluminación; disminuyendo o incluso desapareciendo en la oscuridad. Durante el SP, en cambio, el voltaje no se modifica con cambios de iluminación por grandes que éstos sean y permanecen en la oscuridad.

- Desde el punto de vista de la morfología de la espiraga.- Las registradas en la corteza tanto en la vigilia como en el sueño paradójico tienen una deflexión positiva que durante entre 150 y 250 milisegundos, seguida de otra de menor amplitud de polaridad negativa. Las espigas PGO tienen, además, una deflexión inicial negativa con una duración de 10 y 20 miliseg que nunca aparece en la vigilia.

- Desde el punto de vista de origen.- La principal diferencia entre ambos potenciales radica en que las espigas corticales de la vigilia desaparecen total y permanentemente después de la sección bilateral del nervio óptico, a pesar de la conservación de los movimientos oculares, mientras que las de SP no se modifican. El efecto sobre las espigas en el geniculado lateral no ha sido bien estudiado, pero permanecen durante el SP aún varios días después de la enucleación. Asimismo, la extracción de los globos oculares (Michel y col., 1964 a), la lesión de la retina (Berlucchi y col., 1964) o la curarización (Jouvet y col., 1965) provocan la desaparición de las espigas de vigilia (Jeannerod y col., 1965 a y b), pero no afectan esta actividad durante el SP.

Brooks y Gershon (1971) indican que las espigas que aparecen en la vigilia son el mismo fenómeno que otros autores han dado a conocer como ondas lambda, mientras que las del SP reflejan un fenómeno diferente.

La actividad PGO está directamente relacionada con los movimientos oculares rápidos del SP. Esto ha sido demostrado a partir de que cada potencial PGO de la formación reticular pontina, corresponde con una contracción fásica del músculo lateral recto del globo ocular (Michel y col., 1964; Cespuglio y col., 1975). Los potenciales PGO de la corteza visual o del NGL, no dependen de los mecanismos musculares del movimiento ocular, ya que estos persisten durante varios días después de la enucleación de ambos globos oculares (Jeannerod y col., 1965 b; Brooks, 1967). Además las espigas PGO del NGL preceden o coinciden con el movimiento ocular (Kiyono y Jeannerod, 1967).

3.2.3. Generación y Propagación de la Actividad PGO

El hecho de que la actividad PGO tiene un origen pontino, está apoyado por los siguientes datos experimentales.

Una sección retropontina permite aún la aparición de la actividad PGO durante el sueño de ondas lentas y el sueño paradójico (Jouvet, 1962) y la sección prepontina del tallo cerebral suprime las espigas PGO en el NGL no las de la región pontina (Hobson, 1965). La estimulación eléctrica de la formación reticular pontina durante el SP, provoca la aparición de potenciales PGO en el NGL, mientras que la misma estimulación durante el estado de vigilia, no provoca ningún potencial (Bizzi y Brooks, 1963 ; Brooks y Bizzi, 1963). La electrocoagulación bilateral del tegmento dorsal pontino a nivel del núcleo locus coeruleus y subcoeruleus, suprime definitivamente los potenciales PGO del NGL y de la corteza occipital (Buguet, 1969; Buguet y col., 1970). La aplicación de microinyecciones de 6 hidroxidopamina (que provoca la destrucción de células noradrenérgicas) a nivel del locus coeruleus (LC) o subcoeruleus, también suprime la actividad PGO en todas sus

modalidades (aislados, en pares o en salvas) en el NGL (Cespuglio y col., 1976). Jouvét (1972) propone que el tercio medial del LC correspondería al marcapaso pontino de la actividad PGO y puede ser el responsable de ambos componentes del sueño MOR; el tónico y el fásico. Desde estas áreas, los axones que contienen catecolaminas podrían disparar los movimientos oscilantes (las terminales localizadas en la región oculomotora del puente y mesencéfalo) o las salvas de movimientos oculares (terminales localizadas en los núcleos vestibular medial y descendente). Hobson y col., (1974a), McCarley y col., (1978) y Valleala y col., (1979) reportaron que las neuronas del brachium conjunctivum a nivel pontino del campo tegmental gigante-celular (FTG), presentan descargas en forma de salvas que preceden o son simultáneas a los potenciales PGO del NGL, proponiendo a estas células como ejecutoras de la actividad PGO; Hobson y col., (1974 b; 1975) proponen que dichas células producen descargas similares a la actividad PGO y se encuentran inhibidas por los impulsos del locus coeruleus durante la vigilia, produciéndose una desinhibición de la descarga del FTG antes y durante el SOL, dando lugar a la aparición de los potenciales PGO, así las células localizadas en el FTG son presumiblemente colinérgicas y las del LC noradrenérgicas (Modelo de Interacción Recíproca). La aplicación de carbacol (agonista colinérgico) en el FTG incrementa la duración y frecuencia del sueño MOR ocasionando un aumento en la densidad de las espigas PGO (Bagdoyan y col., 1984). De la misma forma, Vivaldi y col., (1980) observaron que la microinyección de carbacol en el FTG provoca la aparición de la actividad PGO y de episodios de sueño MOR. Sin embargo, Sakai y col., (1976; 1979), Saito y col., (1977), Sakai (1980) y Sakai y Jouvét (1980), han demostrado que la lesión de los núcleos laterodorsalis tegmenti, parabraquialis lateralis, la parte rostral del LC_α y principalmente la lesión de una región situada por delante de estos núcleos, dorsal al brachium conjunctivum y ventral al núcleo cuneiforme, denominada "área X", suprime

completamente la actividad PGO a nivel del NGL. Estos autores también han demostrado que las células de estos núcleos presentan descargas en forma de trenes, que preceden a los potenciales PGO del NGL y que la estimulación eléctrica del área X, provoca la aparición de potenciales en el NGL, equivalentes a las espigas PGO y con una latencia de 5-9 mseg. Más recientemente, Sakai (1985) postula que la actividad PGO en la corteza cerebral se origina a partir de impulsos ascendentes provenientes del NGL, el complejo pulvinar lateral posterior y el núcleo intralaminar, particularmente el núcleo centralis lateralis. Este núcleo talámico recibe impulsos excitadores originados en las neuronas del mesencéfalo caudal y el tegmento pontino rostral. Sin embargo, Laurent y col., (1972; 1974), Cespuglio y col., (1975) y Hobson y col (1969) ya habían confirmado que la destrucción de ambos NGL, no suprime la aparición de los potenciales PGO en la corteza visual.

A estas regiones pontinas que se encuentran bilateralmente distribuidas, se les ha denominado generadores pontinos de la actividad PGO (Laurent y col., 1974).

En los trabajos de Laurent y col., (1972; 1974) y Cespuglio y col., (1975), se ha demostrado que a partir de cada generador pontino, la actividad PGO es propagada primero hacia ambos núcleos del VI par craneal (núcleo abducens), donde se pueden registrar dos tipos de potenciales. Un potencial bifásico (lento) en uno de los núcleos y posteriormente (3-4 mseg), un potencial monofásico (rápido) en el núcleo de VI par contralateral. Estos potenciales bifásicos y monofásicos son seguidos (7-8 mseg) de una inhibición y una activación fásica respectivamente, de los músculos laterales rectos de los globos oculares de esta manera se ha explicado el origen de los movimientos oculares horizontales del SP.

La actividad PGO también se propaga hacia los núcleos oculomotores del III y IV pares craneales y hacia ambos NGL, de una manera ipsilateral y cruzada. Así la latencia de los potenciales PGO de los cuerpos geniculados laterales a la corteza occipital se puede llevar a cabo a través de una vía aún desconocida.

3.2.4. Actividad PGO-Reserpina

A partir de los experimentos neurofarmacológicos, se ha establecido una estrecha relación entre las monoaminas cerebrales y la acetilcolina con la actividad PGO.

La administración de reserpina provocó la aparición de ondas eléctricas comparables a la actividad PGO. Esta droga provoca la liberación de la serotonina almacenada en las terminales nerviosas, es decir depleta los niveles de serotonina, dejándolas sin reserva durante algún tiempo. La reserpina afecta también a la dopamina y a la norepinefrina.

Matsumoto y Jouvet (1964) descubrieron que, después de la inyección de 0.5 mg/Kg de reserpina, en el gato, se suprime el sueño lento durante un período de 12 a 14 hrs y el SP de 22 a 24 hrs. Durante todo este período de vigilia hay descargas permanentes de PGO. Brooks y Gershon (1971), realizan un estudio sobre el efecto de la reserpina en la actividad PGO (a una dosis de 0.75 mg/Kg) y definen un período de latencia y 5 estados de acción de la reserpina, los cuales se definen a continuación:

Período de Latencia. Durante el intervalo inicial de 70-90 minutos después de la inyección de reserpina, el animal permanece con un aspecto normal y no hay cambios en la actividad PGO. El animal permanece despierto, el movimiento de ojos está acompañado por potenciales de movimiento ocular y tiene episodios de sueño MOR, aparecen PGO de SP.

Estado I. La apariencia de las PGO reserpina (PGOr) tienen todas las cualidades de las PGO del SP, aumentan gradualmente, pero pueden suprimirse por estímulos que inducen despertar. Su duración es de aproximadamente 4 hrs, y se inicia después del período de latencia.

Estado II. Las PGOr ocurren con una frecuencia regular de 15 a 24 ondas/minuto y no se suprimen por estímulos. Los animales están fuertemente sedados, pero despiertos. Este estado se desarrolla a las 4 hrs después de la inyección de reserpina y dura aproximadamente 24-30 horas.

Estado III. Conforme el animal empieza a recuperarse de los efectos de la reserpina, el patrón regular de PGOr es remplazado por uno en el que las espigas son moduladas tanto en frecuencia y amplitud. Tanto la sincronía del EEG y el EMG de baja amplitud se asocian con aumento de PGOr. Los animales empiezan a asumir una postura de sueño normal cuando la corteza no está sincronizada lo que probablemente representa el reinicio del SOL. Esta transición ocurre 30 hrs. después de la reserpina y dura aproximadamente 10 hrs.

Estado IV. 40 hrs después de la reserpina el patrón de PGOr es alterado por la presencia de intervalos ausentes de espigas que duran 1 min. o más. Estos intervalos tienden a ocurrir espontáneamente después de los períodos de intensa actividad de PGOr. Conforme pasa el estado, los intervalos ausentes de espigas, incrementan en frecuencia y duración y las PGOr gradualmente regresan a períodos de sincronización, lo que corresponde al estado de SOL; esta fase tiene una duración aproximada de 8 horas.

Estado V. El sueño paradójico retornan; usualmente los episodios de éste preceden por intervalos de sincroniza-

ción cortical. Con el tiempo, la tendencia de PGO a parecer después del sueño MOR disminuye y la recuperación de la reserpina se considera completa. La transición del estado 4 al 5 es de cerca de 48 hrs. después de la administración de la reserpina.

Dentro de los cinco estados antes mencionados, se considera al II como el más estable en la generación de PGO.

La actividad PGO provocada por la reserpina y la actividad PGO que aparece normalmente durante el sueño, tienen varios aspectos en común: aparecen concomitantemente con las contracciones fásicas de los músculos del globo ocular, con los movimientos oculares y se les puede registrar en las mismas regiones cerebrales. La única diferencia importante es que la actividad PGO aparece de manera continua y con una frecuencia de 15 a 25 por minuto, mientras que las del SP es de 60-70 por minuto y está confinada a esta fase del sueño.

La actividad PGO cortical o del NGL, no se suprime al efectuar una sección retropontina o por la destrucción total de los núcleos vestibulares o del rafe, en cambio, sí desaparece al efectuar secciones prepontinas o al destruir el tegmento dorsal pontino. Las lesiones que suprimen a las PGO son las mismas que suprimen a las PGO del SP, por lo tanto, se considera que ambas tienen el mismo generador pontino.

Este modelo farmacológico ha favorecido importante-mente los estudios de la actividad PGO y se ha demostrado que las sustancias y/o lesiones que suprimen a las PGO también suprimen a las PGO del SP.

La actividad PGO es suprimida por las siguientes drogas: 5-hidroxi-triptofano (5-HTP) (20-30 mg/Kg), inhibido-

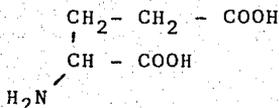
res de la MAO (nialamida, pargilina) (Delorme y col., 1966; Brooks y Gershon, 1971).

Aparte de la reserpina, se han podido encontrar otras sustancias que también provocan la aparición continua de la actividad PGO, estas son: paraclorofenilalanina (PCPA) (Delorme y col., 1966), tropolona + DOPA (Jones, 1970; 1971) y finalmente la 6-hidroxi-dopamina aplicada intraventricularmente (Jouvet, 1972).

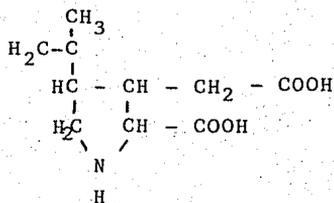
3.3. ASPECTOS TEORICOS DEL ACIDO KAINICO (AK).

En años recientes se han acumulado evidencias sugerentes de que el glutamato (Glu) es un transmisor excitador putativo; además de tener propiedades neurotóxicas (Olney y col., 1971). Ciertas estructuras moleculares análogas del Glu mimetizan tanto su efecto neuroexcitador como neurotóxico y tienen el mismo orden de potencia para sus actividades (Olney y col., 1971; Schwarcz y col., 1978); Olney (1978) propone el término de aminoácidos "excitotóxicos" a estas estructuras.

El más potente de los análogos del Glu es el ácido kainico (AK), su estructura química es la de un aminoácido heterocíclico dicarboxílico, que tiene 3 átomos de carbono asimétrico (Fig. 4). Este aminoácido es de particular interés por su extrema potencia como excitador y tóxico, pues estas propiedades llegan a ser hasta 300 veces mayores que las del propio Glu. El AK fue descubierto por Takemoto y col. en 1953 (Citado en Takemoto, T., 1978) a partir del alga marina Digena simplex, el cual ha sido usado por muchas décadas en la farmacopea japonesa como un ascaricida.



Acido Glutámico



Acido Kainico

Fig. 4.- Estructuras del Ac. Glutámico y del Ac. Kainico.

Los primeros en describir la acción excitadora del AK fueron Shinozaki y Konishi (1970), quienes al administrarlo icontoforéticamente en la corteza cerebral de rata, inducían aumento en la frecuencia de descarga. En este efecto, el AK resultó ser más potente que el Glu y los otros aminoácidos administrados (Ac.-allokaínico, ác. iboténico y ác. tricolómico). Posteriormente Johnston y col. (1974) y McCulloch y col. (1974), confirmaron y ampliaron estos datos estudiando las interneuronas espinales en el gato; observaron que el AK era más potente que el ácido N-metil-D-aspartico. Además, Olney y col. (1974) describen el efecto convulsivo del AK en el ratón. En cuanto a su neurotoxicidad, Olney y col. (1974), mostraron que el AK es altamente tóxico; establecen que la neurotoxicidad es paralela a la actividad excitatoria y proponen que el efecto tóxico se debe a la depolarización sostenida con el incremento concomitante en la permeabilidad iónica de la membrana.

El daño cerebral resultante de la acción del AK es selectiva a ciertas regiones del cerebro, las cuales yacen del "lado externo" de las barreras vascularizadas y son conocidas colectivamente como órganos circumventriculares (CVO) además de la retina (Olney, 1969; Olney y col., 1977). Dentro de los órganos circumventriculares se encuentran el área postrema, órgano subcomisural, órgano subfornical, órgano vasculoso de la lámina terminal, la eminencia media y el núcleo arqueado, estos últimos pertenecientes al hipotálamo (Ver Fig. 5) (Olney, 1978).

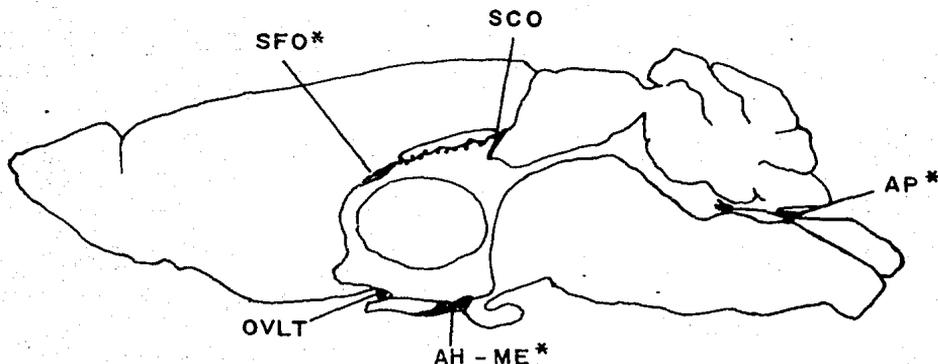


Fig. 5.- Diagrama sagital del cerebro de ratona, para indicar la localización de los órganos circumventriculares, que incluyen el área postrema (AP), órgano subcomisural (SCO), órgano subfornical (SFO), órgano vasculoso de la lámina terminalis (OVLT), y las regiones del hipotálamo el núcleo arqueado y la eminencia media (AH-ME). Los asteriscos indican las regiones CVO más vulnerables al daño de excitotoxinas administradas sistémicamente (Olney, J. y col., 1978).

Los cambios morfológicos que se presentan cuando se administra AK oral o subcutáneo (Cox y col., 1978) son: edema de la glía, las dendritas y los cuerpos neuronales, seguidos por cambios degenerativos en organelos hasta llegar a la necrosis neuronal, Olney (1978) ha determinado esto como dendrosomatotoxicidad; la reacción puede ser muy rápida o lenta, esto va a depender de que tan sensible sea la región al AK así como otras consideraciones que se mencionan a continuación.

3.3.1. - Consideraciones Prácticas en la Administración del AK.

Dentro de las consideraciones más importantes que se deben tomar en cuenta para obtener la máxima eficiencia del AK ya sea como herramienta excitadora o de lesión (aparte de la sensibilidad de la región) son la concentración de la solución, su estabilidad y su velocidad de inyección.

i) Estabilidad de la solución.

En experimentos realizados por McGeer y col. (1978) sobre la pérdida de actividad de la colina acetiltransferasa (CAT) y la glutamato descarboxilasa (GAD) en el tejido neostriatal, provocada por inyecciones de AK, observaron que estas eran mayores con las soluciones frescas de AK que aquellas almacenadas por algún tiempo a 4°C o repetidamente congeladas y descongeladas.

ii) Efecto de la Concentración y Velocidad de Inyección del AK.

En los experimentos de McGeer y col. (1978) se midieron las actividades enzimáticas utilizando la CAT y GAD para determinar la extensión del daño neuronal en el tejido neostriatal; el grado de difusión que se da bajo varias condiciones parece jugar un papel muy importante en los resultados obtenidos. Así, observan que al inyectar 2.5 nmoles de AK en 1 μ l a una velocidad muy lenta, disminuye el efecto neurotóxico; se sugiere que este efecto se debe a la concentración administrada en un tiempo dado más que a la cantidad total. En todos los casos donde inyectaron cantidades mayores o iguales a 1.25 nmoles., hubo una desaparición virtual del soma neuronal justamente en donde se inyectó como es indicado por el examen histológico o medidas de la actividad de la CAT. La explicación basada en la difusión también parece importante cuando se considera que la inyección de 2.5 nmoles ó 5 nmoles de

AK en 1 μ l provoca de un 10 a 15% de mayor destrucción enzimática que la inyección de las mismas cantidades totales en 0.5 μ l, por lo tanto, es importante tanto el volumen como la velocidad de inyección, esto último ha sido también enfatizado por Nadler y col., (1978).

3.3.2 Utilidad del AK.

Una de las características principales del AK es su acción sólo en somas respetando axones de paso y fibras aferentes terminales (Coyle y Schwarcz, 1976; McGeer y McGeer, 1976), debido a estas características se espera que no solamente pueda ser usado para la producción de "modelos" animales de enfermedades que involucran una pérdida neuronal general en áreas específicas del cerebro (McGeer y col., 1978), sino también como una ayuda para:

a) Resolver dudas sobre que tipo de estructura está involucrada en varios efectos neuroquímicos o de comportamiento de las lesiones electrolíticas.

b) Para localizar varios marcadores bioquímicos de tipos específicos en estructuras del área lesionada.

Las lesiones electrolíticas de una región del cerebro destruyen todas las estructuras dentro del área de lesión (Fig. 6 a). Por consiguiente, surgen dudas referentes a si los efectos del comportamiento provocados por tal lesión o cualquier cambio fisiológico o bioquímico que ocurra en alguna área remota (B) del sitio de lesión, se deben a la destrucción de las neuronas que se originan y terminan en el área lesionada, o solamente a la lesión de las fibras que pasan a través de esa área. En tal caso, el AK puede ayudar para decidir si los efectos provocados por tal lesión se limitan a el soma

neuronal (Fig. 6 b).

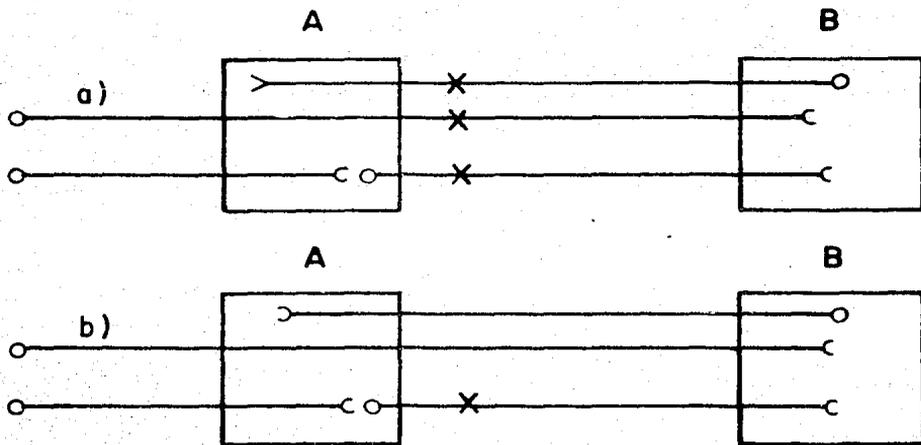


Fig. 6.- Presumible selectividad de las lesiones causadas por inyección local (b) de AK dentro del área A comparada con una lesión electrolítica o quirúrgica (a) de la misma área. Las neuronas que podrían presumiblemente ser dañadas se indican con una x (Tomada de McGeer y col., 1978).

Las inyecciones locales de AK o Glu han sido utilizadas con mayor preferencia que las lesiones electrolíticas o quirúrgicas para definir más precisamente el lugar y la naturaleza de las neuronas implicadas en la función extrapiramidal (Fibiger, 1978), en la influencia nigral sobre la postura (Di Chiara y col., 1977) y en el control hipotalámico de la obesidad (Simson y col., 1977). Sin embargo, antes de que el AK (o sus análogos) pudieran ser aplicados para la resolución de tales problemas, surgieron 2 preguntas relacionadas

con su selectividad para lo cual, además de ser necesario un gran número de datos, las preguntas pueden variar de área a área del cerebro; estas preguntas son las siguientes:

a) El AK causa la destrucción de todos los somas neuronales en el área inyectada o solamente algunos tipos neuronales?

b) El AK respeta todos los axones de paso y terminaciones nerviosas aferentes en el área inyectada?

Los estudios de microscopio electrónico en el hipotálamo (Olney y col., 1978) y del tejido neostriatal y estudios bioquímicos en esta última área (Coyle y col., 1978), sugieren que las inyecciones de 5-10 nmoles de AK en 1 μ l causan destrucción de todo el soma neuronal dentro de un radio de 1-1.5 mm del sitio de inyección. Sin embargo, los experimentos de Herndon y Coyle (1978) en el cerebelo después de inyecciones locales, de Nadler y col., (1978) en el hipocampo después de inyecciones intracelulares, y de Olney y Gubareff (1978) sobre la degeneración en la corteza piriforme sugieren, que algunos tipos celulares pueden ser mucho más sensibles que otros a los efectos tóxicos del AK. Por lo tanto, la cuestión de si las inyecciones locales de AK pueden destruir los somas neuronales en cualquier área del cerebro sigue sin resolución; asimismo, la cuestión de la inmunidad total de axones de las neuronas extrínsecas y que terminan en o pasan a través del área lesionada, tampoco ha sido resuelta.

Sin embargo, estudios realizados en el tejido neostriatal (Coyle y col., 1978) y en la sustancia negra han proporcionado evidencias cuantitativa que por lo menos en estas áreas las inyecciones de AK no afectan a un número significativo de terminaciones nerviosas aferentes. Las observaciones

al microscópio electrónico en éstas y otras áreas están también de acuerdo con ésta hipótesis. Por lo tanto, respuestas seguras a éstas preguntas dejando aparte la selectividad y cronicidad de AK serán únicamente obtenidas cuando una mayor cantidad de datos disponibles sobre los efectos de las inyecciones de AK en distintas áreas y cuando algún entendimiento sea obtenido sobre el mecanismo de neurotoxicidad.

3.3.3 Posibles Mecanismos de Neurotoxicidad para el Ac.Kainico

Esto es un problema de lo más intrigante debido a que no solamente se enfoca a la selectividad del AK y su uso como una herramienta en la neurobiología, sino que también en la posibilidad de que la pérdida neuronal en un rango de enfermedades humanas puede deberse a un mecanismo análogo que involucra los sistemas de Glu del cerebro (McGeer y col., 1978).

Olney (1978) inicialmente sugirió que las acciones tóxicas del Glu y sus análogos, incluyendo al AK, eran a través de su acción excitadora sobre el receptor del GLU. Sin embargo estudios recientes no sostienen esta hipótesis. En invertebrados se ha encontrado que el AK es un agonista débil de los sitios receptores excitatorios (citado en Ruck y col., 1980), mientras que en la unión neuromuscular del crustáceo (Shinozaki, H. y Shibuya, I., 1974), en ciertas neuronas de Helix aspersa (citado en Ruck y col., 1980) y en la corteza cerebral de mamíferos (McCulloch y col., 1974), el AK parece ser que actúa en receptores distintos del Glu. Además los requerimientos iónicos para la depolarización inducida por Glu en el cerebro de mamíferos (Evans y col., 1977), y la excitación inducida por Glu en neuronas corticales de ratas puede ser preferencialmente antagonizada por drogas que son muy débiles en bloquear depolarizaciones inducidas por AK (citado en Ruck y

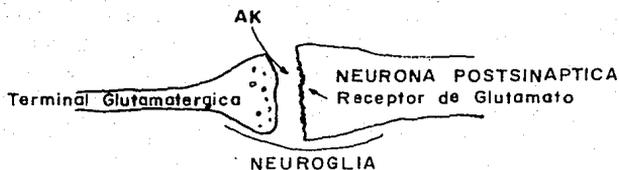
col., 1978). Asimismo McGeer y col., (1978), de acuerdo a sus experimentos en el tejido neostriatal, también proponen que el AK no actúa directamente sobre los receptores del Glu, ya que las inyecciones de AK no parecen tener mucha acción neurotóxica en este tejido después de la degeneración del tracto glutamatérgico o corticoestriatal. De acuerdo a esto los autores proponen 2 hipótesis para explicar la aparente dependencia de la neurotoxicidad de AK en la integridad del sistema corticoestriatal (Fig. 7 b y 7 c). En la primera hipótesis (liberación o inhibición de captura) proponen que el AK no puede actuar directamente sobre los receptores post-sinápticos del Glu, como se muestra en la Fig. 7 a, pero puede causar liberación de Glu y/o inhibir su captura dentro de la terminación nerviosa del Glu. La neurotoxicidad del AK podría ser indirecta y debida a los altos niveles de Glu producidos en la hendidura sináptica. Puede argüirse que ésta hipótesis no es factible en vista de la pequeña potencia del Glu cuando es inyectado en el tejido neostriatal o el hipocampo (Herndon y Coyle, 1978).

Lakshman y Padmanaban (1974) previamente han sugerido que los efectos convulsivos de AK así como de otros análogos del Glu (Di Chiara y col., 1977), podrían ser mediados por éste último, ellos por lo tanto sugieren un mecanismo similar al propuesto por McGeer y col., (1978).

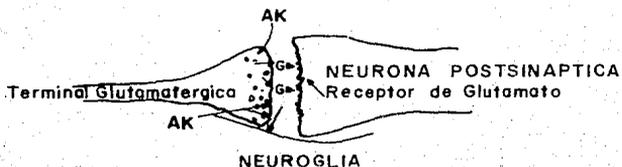
La segunda hipótesis es llamada metabólica. El metabolismo del AK en el tejido cerebral aún no ha sido estudiado. Es posible que algún metabolito del AK pueda ser el agente tóxico; si este es el caso, parece necesario, en vista de los efectos protectores de la lesión corticoestriatal, postular que el metabolismo de AK ocurre en la terminal nerviosa glutamatérgica (Fig. 7 c); las evidencias que sostienen esta hipó-

tesis son pocas o nulas.

a) Hipótesis Excitotóxica de Olney (1978)



b) Posible Acción vía Glutamato



c) Posible Acción vía Metabolitos (AK)

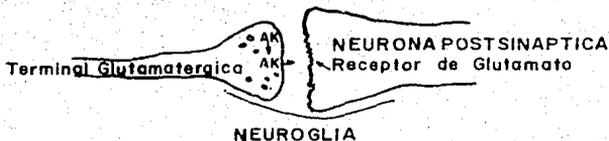


Fig. 7.- Mecanismos Hipotéticos de neurotoxicidad del AK. (7a) Hipótesis excitotóxica de Olney; (7b) Mecanismo indirecto involucrando liberación de Glu y/o inhibición de recaptura; (7c) Hipótesis de formación de metabolitos tóxicos de AK (Tomada de McGeer y col., 1978)

Finalmente, las características de los sitios de unión para el AK tritiado en el cerebro de rata son consis-

tes, surgiendo así otra hipótesis referente a la posible existencia de receptores específicos del kainato sobre membranas neuronales (London y Coyle, 1979). Así, los sitios del kainato pueden representar receptores para una sustancia endógena no identificada que probablemente incluye la estructura del Glu (Ruck y col., 1980).

Más recientemente, Ruck y col., (1980) han encontrado que el derivado del ácido fólico, metiltetrahidrofolato (MTHF), compite poderosamente por los sitios de unión del AK en las membranas cerebelares de la rata y mimetiza al AK en la depolarización de neuronas de rana, proponiendo que el MTHF puede ser un neuromodulador endógeno con propiedades excitatorias y neurotóxicas.

Olney y col., en 1981 inyectaron MTHF directamente dentro de la amígdala de la rata adulta y encuentran que a dosis muy altas (300 nmoles) se reproduce el componente específico de la neurotoxicidad del AK, corroborando así a la hipótesis de Ruck y col. (1980).

El MTHF es la forma predominante del folato en la sangre y en el fluido cerebroespinal (citado en Ruck y col., 1980). Se relaciona dentro del cerebro por un proceso activo (Spector y col., 1975), y estudios de fraccionamiento subcelular han mostrado una alta concentración en fracciones sinaptosomales (citado en Ruck y col., 1980).

4.0 PROBLEMA

A partir del descubrimiento de la actividad PGO, han surgido una serie de hipótesis para determinar la región generadora de estos potenciales. Entre estas hipótesis destacan la de Hobson y col., (1974a, b) quienes proponen que las células del campo tegmental gigante-celular (FTG) producen descargas eléctricas en forma de salvas que preceden o son simultáneas a los potenciales PGO del núcleo geniculado lateral (NGL) proponiéndolas así como las generadoras de la actividad PGO. Posteriormente, Sakai (1985) propone a la región dorsolateral de la formación reticular ponto-mesencefálica como la posible región que contiene neuronas que generan dichos potenciales. Sakai denomina a esta región como área X.

En este estudio se pretende valorar si el área X es la región generadora de dichos potenciales y contrastarla con el FTG, activando a las neuronas de cada región con la aplicación de ác. kaínico, un potente aminoácido excitador análogo del glutamato que actúa y lesiona somas neuronales respetando vías de paso. En este trabajo sólo se tomará en cuenta la fase excitadora y no la de lesión, de acuerdo al objetivo general planteado en esta tesis y tomando en cuenta el trabajo realizado por Shinozaki y Konishi (1970) referente a la excitabilidad inmediata que provoca el ác. kaínico al ser aplicado iotoforéticamente en la corteza de la rata (ver referencia y Aspectos Teóricos del Ac. Kaínico en esta tesis para mayor detalle).

5.0 HIPOTESIS

Si el área X es la región que contiene las neuronas que generan los potenciales PGO, al aplicar ác. kaínico habrá una excitación de dichas células, por lo que se incrementará significativamente la densidad de dichos potenciales.

Si esta región no fuera la generadora de la actividad PGO, al aplicar ác. kaínico no habrá modificaciones en la densidad.

Por otro lado, si en el campo tegmental gigante-celular se encuentran las neuronas generadoras, al aplicar ác. kaínico habrá un incremento en la densidad de PGO; si este no fuese el caso, no habrá cambios en la densidad de PGO al aplicar el kaínato.

En caso de que el ác. kaínico aplicado en el área X y en el FTG provoque un incremento en la densidad de PGO, podría pensarse en la existencia de un circuito donde ambas estructuras toman parte.

Para comprobar o descartar dichas hipótesis, se analizó la frecuencia de la actividad PGO antes y después de aplicar el ác. kaínico (efectos agudos).

6.0 OBJETIVOS

1) Cuantificar la frecuencia de espigas PGO en situación de control, con aplicación de vehículo y Ac. kaínico en el área X, así como analizar el curso temporal de los efectos agudos provocados por cada manipulación.

2) Cuantificar la frecuencia de espigas PGO en situación de control, con aplicación de vehículo y Ac. kaínico en el FTG, así como analizar el curso temporal de los efectos agudos provocados por cada manipulación.

3) Analizar histológicamente los sitios de microinyección de Ac. kaínico tanto en el área X como en el FTG y valorar los efectos dependientes del sitio.

7.0. MATERIAL Y METODOS

7.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron 25 gatos adultos con un peso promedio de 3.00 kg. Doce horas antes del experimento los animales fueron tratados con reserpina (1 mg/kg ip), con el fin de inducir espigas PGO en forma continua durante el estado 2 del síndrome reserpínico (Ver Actividad PGO, pág.), dicho estado se caracteriza por ser el más estable y duradero. Los gatos fueron divididos en los 2 grupos siguientes.

GRUPO I. Formado por 11 gatos de los cuales 6 se les inyectó bilateralmente ác. Káinicico en el área X a una cantidad de 5 nmoles/ μ l y a otros 5 animales se les administró 1 μ l de agua desionizada como vehículo, esto con el fin de observar si el volumen inyectado o algún traumatismo son los responsables de los posibles cambios observados.

GRUPO II. Constituido por 14 animales: 5 para la aplicación de vehículo en el FTG y 9 para la aplicación de ác. káinicico a 5 nmoles/ μ l.

7.2. ELECTRODOS Y AREAS DE IMPLANTACION

Los sujetos fueron implantados con electrodos bipolares de acero inoxidable, con una separación de 0.5 mm. entre cada polo y con una superficie de contacto de 0.5 mm. Estos electrodos fueron colocados estereotáxicamente y de manera bilateral en el núcleo geniculado lateral (NGL), para el registro de la actividad PGO. Asimismo, se colocaron un par de cánulas guía en el área X o en el FTG, en cada sujeto independiente, para la aplicación del kainato y del vehículo. Las cánulas guía se construyeron a partir de agujas hipodérmicas

de acero inoxidable (No. 21) con una longitud 7 cm. Para la realización de las microinyecciones, se colocaron dentro de las cánulas guía cánulas de inyección de acero inoxidable (No. 27) las cuales están acopladas a una microjeringa de 10 μ l (Hamilton) por medio de un tubo de polietileno.

Para la elección de las coordenadas de implantación de los electrodos en los NGL y las cánulas para el área X o FTG fue necesario utilizar los instrumentos de cirugía estereotáxica y el atlas estereotáxico de Berman (1968) y de Snyder y col. (1961).

7.3. PREPARACION EXPERIMENTAL

El estudio electrofisiológico fue hecho en gatos en preparación aguda. Los pasos del proceso de implantación son los siguientes:

a) Calibración

La calibración se llevó a cabo tomando de un atlas del cerebro del gato las coordenadas específicas para cada estructura del sistema nervioso, lo que permite situar un núcleo en forma tridimensional: Antero-Posterioridad (AP), altura (H), lateralidad (L). Para realizar la calibración se colocó el electrodo o la cánula en "torres" portaelectrodos que van montadas en las barras del marco estereotáxico; el electrodo se alinéa a un sitio de referencia del instrumento, al cual se le denomina "cero" estereotáxico. Se procede a registrar las coordenadas de referencia "cero" tomándolas de la graduación del instrumento en los tres sentidos, que al compararse con las coordenadas del "atlas" permiten obtener las coordenadas de "implante" o "totales", que indican con gran precisión la situación del núcleo por registrar (Fig. 8).

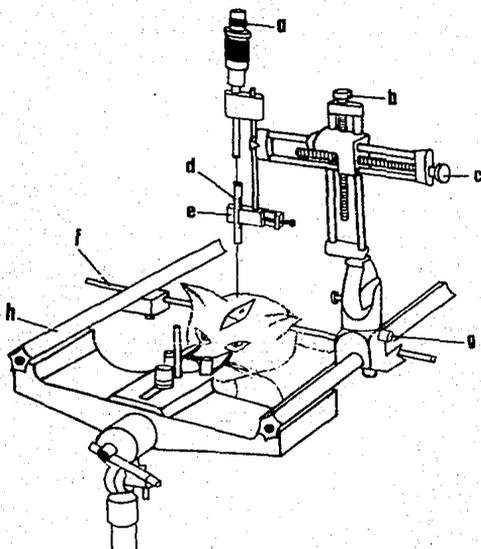


Fig. 8. Esquema del aparato estereotáxico: a) micrómetro; b) control vertical; c) control lateral; d) microjeringa de $10 \mu\text{l}$; e) sujetador de microjeringa; f) barras (Conducto auditivo); g) control antero-posterior; h) barra paralela.

b) Intervenciones Quirúrgicas

Para la realización del experimento agudo fue necesario practicar las siguientes cirugías en cada sujeto experimental.

- ANESTESIA Y VENODISECCION

Para las intervenciones quirúrgicas los animales fueron anestesiados con ether. Se realizó una venodisección en la vena femoral para la colocación de un catéter, con el objeto de poder administrar suero fisiológico en el curso del experimento y pancuronio (Pavulon) como sustancia curarizante (1ml/2 kg). El tamaño de la incisión fue de aproximadamente 2 cm. y previo a ésta se le inyectó anestésico local (Xilocaina con epinefrina) en la zona a disectar para evitar el dolor (Fig. 9A).

- CISTOSTOMIA

Con el objeto de controlar la excreta de líquidos, se realizó la cistostomía de la siguiente manera: se hizo una incisión en la parte baja de la línea media de la pared abdominal de 5 cm. de longitud aproximadamente para la exposición de la vejiga (Fig. 9A), colocándose previamente una capa de gasas alrededor de la herida con el fin de evitar escurrimientos de líquidos contaminados dentro de la cavidad abdominal y mantener en posición al órgano. Una vez localizada la vejiga se sostuvo y apoyó con suturas de fijación y se hizo una pequeña incisión en la línea media de la vejiga, de manera que se pudiera introducir una sonda vesical de globo. Se suturó la vejiga y se colocó nuevamente en su lugar; posteriormente se suturó el músculo de la pared abdominal y luego la piel. La sonda se conectó a una bolsa de drenaje para

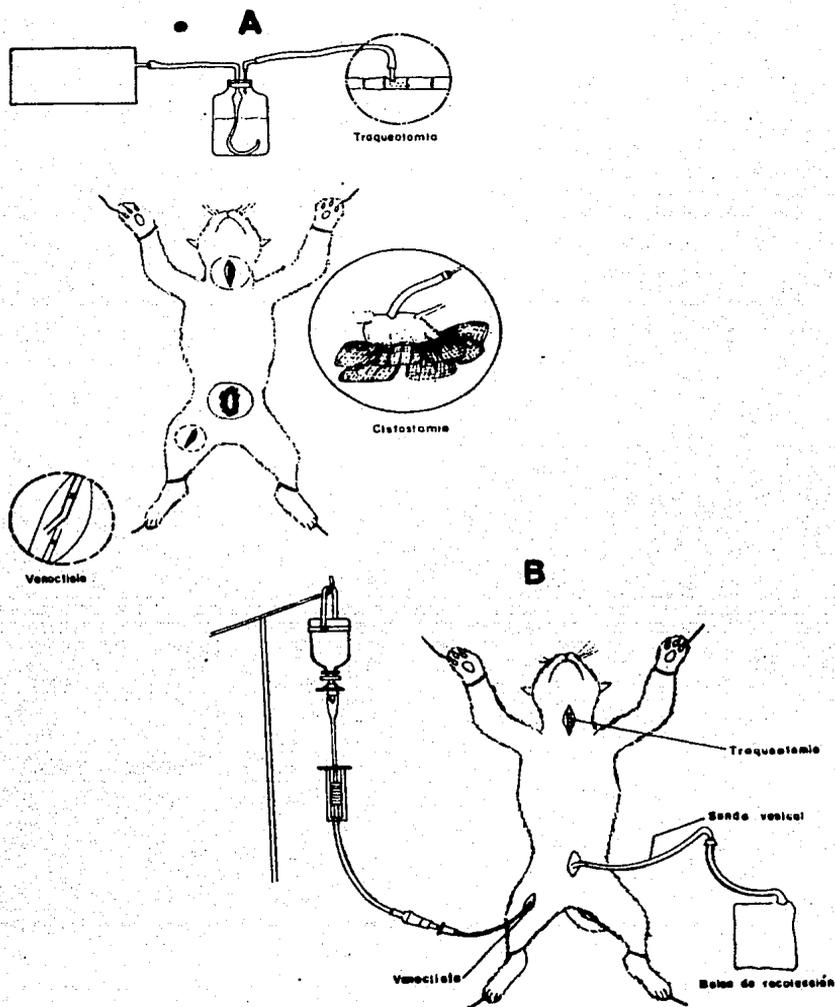


Fig. 9 Representación esquemática de las intervenciones quirúrgicas (A), en B se muestran los aditamentos necesarios para la mantención del animal una vez realizadas las intervenciones quirúrgicas.

- TRAQUEOTOMIA

Al igual que en las demás intervenciones se afeitó la región a disectar, en este caso la parte anterior del cuello. Se disectó el músculo por medio de unas pinzas hasta encontrar la traquea; se practicó un corte entre los discos cartilagosos para colocar una cánula endotraqueal de dos vías. Una de las cuales se conectó a un recipiente con agua mediante un tubo de plástico que a su vez está conectado a una bomba de presión positiva intermitente y la otra vía se utilizó para la regulación del aire. Esto permitió mantener al animal con respiración artificial bajo los efectos de un agente curarizante (Pancuronio). Tanto en la Fig. 9A como en la 9B se esquematizan las 3 intervenciones quirúrgicas a las que fue sometido el animal.

c) Montaje del Animal

Una vez curarizado el animal y regulada la respiración se procedió a realizar el montaje del animal en el aparato estereotáxico de la siguiente manera: por medio de la inserción de la punta (extremo interno) de una barrita estereotáxica o "lápiz" en cada uno de los conductos auditivos, se sujetó la parte externa de éste y se atornillo en las barras paralelas del aparato estereotáxico, asegurando la posición adecuada por la imposibilidad de realizar movimientos de la cabeza del animal en cualquier sentido, ayudando en esto la colocación de una barra en el paladar que tira hacia arriba y dos más colocadas en la parte inferior-interna de la órbita ocular con fuerza en dirección contraria a la anterior (Fig. 8).

Posterior al montaje del animal se seccionó totalmente la médula espinal a nivel de la segunda y tercera vertebrae cervicales, con el fin de eliminar todo movimiento que pudiera

tener el animal, aún ya estando curarizado y así evitar la presencia de artefactos en el registro. Para el descubrimiento de la médula fue necesario utilizar unas pinzas gubia para realizar una laminectomía. Hecho esto se colocó Gelfoam para la retención de la hemorragia y posteriormente se suturó el músculo y la piel.

d) Craneotomía

Una vez seccionada la médula espinal se administró por vía endovenosa, Uretano (1.5 g/kg) y se procedió a preparar la craneotomía, afeitando la parte superior de la cabeza, seguido por asepsia y antisepsia de este sitio.

Se practicó una incisión del cuero cabelludo en la línea media de aproximadamente 5 cm., de longitud. Se incidió con bisturí la aponeurosis de los músculos temporales siguiendo el borde de su inserción en el hueso y posteriormente se rechazó hacia los lados la masa muscular, utilizando una gasa para dejar al descubierto el periostio de la región; hecho esto se procedió a la implantación de los electrodos.

e) Implantación de los Electrodos y Cánulas

Se colocaron las torres estereotáxicas que portan los electrodos o cánulas en el aparato estereotáxico. Cuidadosamente se alinearon la punta del electrodo o cánula por medio de los dispositivos mecánicos adjuntos a la torre, tomando las coordenadas "totales" antero-posterior y lateral respectivamente para el núcleo por registrar; se marcó este punto en el cráneo y se realizó un trepano para cada electrodo o cánula que se implantó utilizando un taladro dental. Posteriormente se incide la duramadre con una aguja hipodérmica para que permita libremente el paso de electrodos y cánulas,

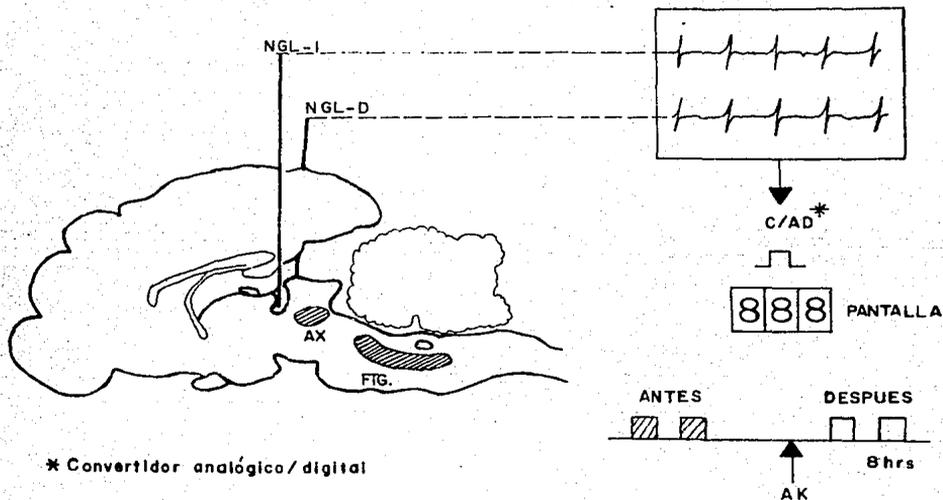
que se encuentran correctamente alineados en sentido antero-posterior y lateral; solo será necesario hacerlo descender hasta alcanzar el núcleo en estudio, lo que está determinado por la coordenada de altura "total".

f) Equipo Electrónico de Registro

La actividad electrofisiológica recogida a partir de todos los electrodos, se amplificó y registró en un polígrafo (Alvar 8 canales); un canal (generalmente conectado a un cuerpo geniculado) se pasó a un convertidor analógico digital para el conteo de la actividad PGO. Los registros se llevaron a cabo a una velocidad del papel de 2.5 mm/seg., excepto durante la toma de controles (2 con duración de 10 min) y treinta minutos después de la aplicación de la primera microinyección a partir de la cual se toman muestras de 10 min cada hora, en un período de 8 hrs; la velocidad en estos casos fue de 5 mm/seg. En la Fig. 10 se esquematiza lo anterior.

g) Sistema de Microinyección

La aplicación del ác. kaínico y vehículo en el área X y FTG se realizó utilizando un sistema microinyector que está constituido por un micrómetro y un sujetador de microjeringa, el cual se adaptó a una torre estereotáxica (Ver esquema Fig. 11). Con la ayuda de una microjeringa Hamilton de 10 μ l la cual está acoplada por medio de un tubo de polietileno a una cánula de inyección del número 27 de acero inoxidable, se inyectó un microlitro de ác. kaínico o vehículo (agua desionizada) de manera bilateral de acuerdo a la región en estudio (FTG o área X); ésta cánula sobresale 3 mm. por debajo



* Convertidor analógico/digital

Fig. 10. Representación sagital del tallo cerebral del gato en donde se representan las regiones en donde fue registrada la actividad PGO (NGL-izquierdo y derecho), las zonas sombreadas representan las regiones que fueron estudiadas en este trabajo; asimismo se esquematiza el equipo electrónico y los registros tomados ANTES (2 controles) y DESPUES (tomados cada hora durante 8 hrs) de aplicado el kainato (AK).

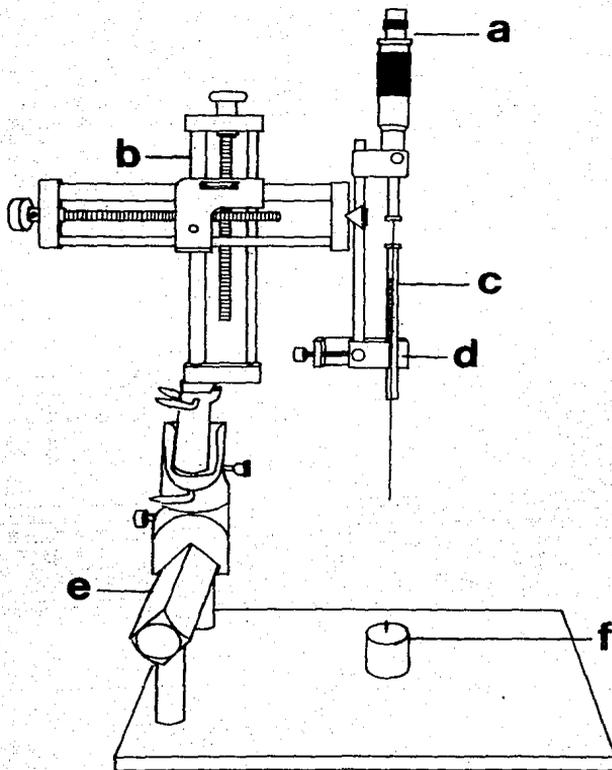


Fig. 11. Sistema de Microinyección: a) micrómetro; b) Torre estereotáxica; c) microjeringa de 10 μ l; d) sujetador de microjeringa; e) barra estereotáxica; f) "cero" estereotáxico.

de la cánula guía la cual es del número 21 y tiene una longitud de 7 cm. La inyección se realizó en un período de 5 min. ($0.2 \mu\text{l}/\text{min}$) y terminada ésta se dejó la cánula en el lugar durante 15 min. con el fin de evitar figuras (Fig. 12).

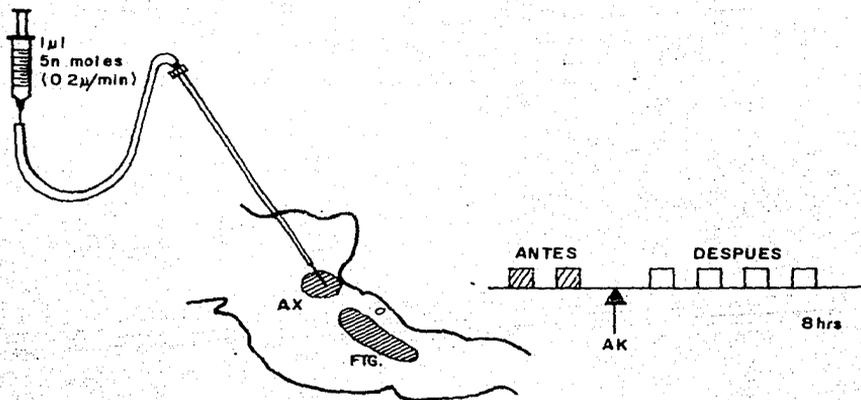


Fig. 12. Diagrama del tallo cerebral del gato que muestra los sitios de microinyección (zonas sombreadas) y los registros poligráficos controles (2; ANTES) y DESPUES (8 muestras en total) de aplicado el kaínato (AK).

h) Perfusión y Análisis Histológico

Al final de cada experimento los animales se perfundieron para realizar el análisis histológico. El tipo de perfusión utilizada fue la cardíaca y para su realización fue necesario sacrificar a los animales con una sobredosis de pentobarbital sódico. Posteriormente se inyectó solución salina fisiológica dentro del ventrículo izquierdo para expul-

sar la mayor parte de la sangre que se encuentra en el corazón y en el cerebro (Fig. 13); una vez lavado el aparato circulatorio, se inyectó formol al 10%. Después de terminada la perfusión se obtiene el cerebro, se coloca en un recipiente con formol al 10% y se etiqueta; el cerebro permanece ahí hasta que se realiza el análisis histológico.

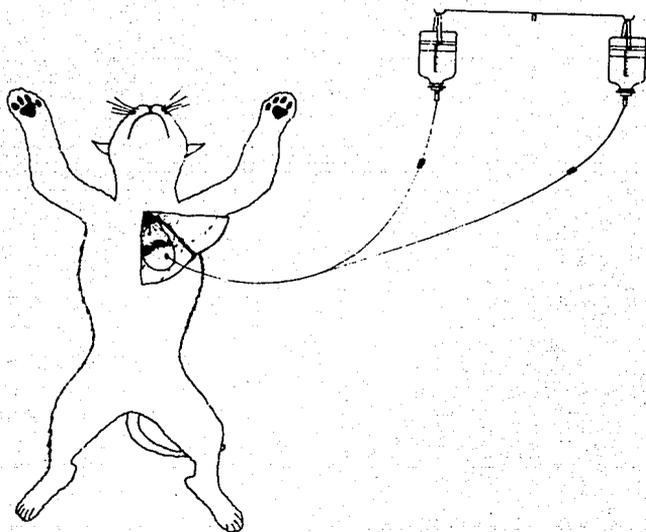


Fig. 13. Esquema de Perfusión Cardíaca.

Con el fin de verificar si los sitios de colocación de electrodos y de inyección se encontraban dentro de las regiones deseadas, se hizo un análisis histológico para lo que se realizaron cortes del cerebro con microtomo de congelación a $60 \mu\text{m}$ y en forma seriada. Para esquematizar las áreas donde se observaron las marcas, se emplearon reproducción de cortes del tallo cerebral de los planos A 7.5 a P 13.5, tomadas por fotografías de las láminas del atlas de Berman (1968); los cortes se tiñeron de acuerdo a la técnica de Nissl.

i) Análisis de Resultados.

Para la cuantificación de la actividad PGO, se analizaron los cambios del número (según curso temporal) y de la densidad (en forma global) de la actividad PGO provocados por la acción excitadora del ác. kaínico en cada uno de los grupos experimentales. En ambos casos los datos fueron promediados, graficados y valorados estadísticamente mediante la prueba t de "student" para comparaciones pareadas (con un diseño antes-después) y una probabilidad del 95% para verificar la significancia de los cambios obtenidos.

8.0. RESULTADOS

Los resultados fueron obtenidos a partir del análisis de la densidad global y del curso temporal del porcentaje de cambio de la actividad PGO. Se utilizó un número total de 25 gatos los cuales fueron divididos en 2 grupos (área X o FTG); en cada grupo antes de ser administrado el vehículo o el ác. kaínico se registró la actividad PGO en situación de control, tomando muestras (2) con duración de 10 minutos cada una. Asimismo, se realizaron análisis histológicos de los sitios de inyección de cada región (área X o FTG), utilizando reproducciones de cortes del tallo cerebral tomadas por fotografías del atlas de Berman (1968) para esquematizar las áreas en donde fueron encontradas las marcas de las inyecciones.

8.1. MICROINYECCION DE VEHICULO Y AC. KAINICO EN EL AREA X (GRUPO I).

Este grupo esta formado por 11 animales de los cuales 5 fueron utilizados para la aplicación de vehículo (agua desionizada) y los 6 restantes para ác. kaínico.

8.1.1. Vehículo.

Como se observa en la Tabla 1, la densidad (D) promedio de PGO (frecuencia/min) en situación control fue de 15.9 ± 1.9 ($\bar{X} \pm EE$) mientras que con la administración de vehículo fue de 14.6 ± 1.9 PGO/min lo cual como se muestra en la Fig. 14 corresponde a una disminución del 8% con respecto a su propio control (100%); esta disminución analizada estadísticamente mediante una t pareada con probabilidad del 95% resultó no ser significativa.

El curso temporal del cambio provocado después de la aplicación del vehículo se presenta en la Fig. 15, en donde se muestra una disminución del 10 al 20% en las primeras tres horas después de la aplicación del vehículo (\uparrow); posteriormente hay una oscilación alrededor de la línea basal que se mantiene durante todo el intervalo muestreado (hasta las 8 hrs.). El cero % corresponde a la línea basal obtenida en situación de control. La máxima modificación en la frecuencia de espigas PGO se observa a la media hora de haberse aplicado el vehículo y corresponde a una disminución del 21% con respecto a la línea basal, sin ser este cambio significativo.

TABLA 1.- Valores promedio obtenidos a partir de la administración bilateral de 1 μ l de vehículo o ác. kainico en el área X. n= número de gatos; \bar{X} = densidad promedio de espigas PGO; EE= error estandar; % CAMBIO= porcentaje de cambio una vez aplicado el vehículo o el kainato; t_c = prueba t de "Student" calculada; t_e = prueba t de "Student" esperada; p= significancia estadística.

	n	\bar{X} (PGO/min)	EE	% CAMBIO	t_c	t_e	P
CONTROL	5	15.90	1.9	-8	0.4463	2.7764	NS
VEHICULO	5	14.60	1.9				
CONTROL	6	29.01	3.3	-12	1.5754	2.0150	NS
AK	6	25.60	2.4				

NS= no significativo

3.1.2. AC. KAINICO.

En este grupo, como se muestra en la Tabla 1, el valor promedio en la densidad de PGO de la situación control

fue de 29.01 ± 3.3 y con la aplicación de ác. kaínico en el área X fue de 25.6 ± 2.4 PGO/min, lo cual corresponde a una disminución no significativa del 12% (Fig. 14).

DENSIDAD DE PGO CON VEHICULO Y AC. KAINICO EN EL AREA X.

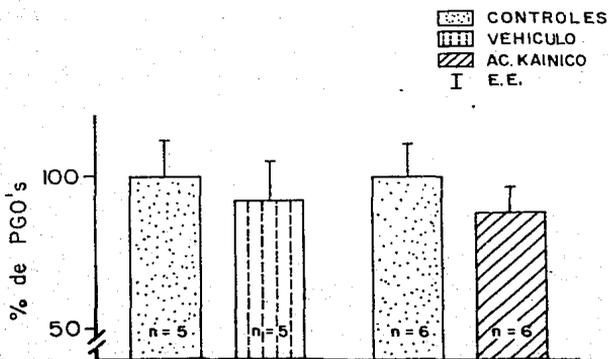


Fig. 14.- Histograma que muestra el análisis global del efecto provocado por el ác. kaínico y el vehiculo en el área X. Cada efecto esta comparado con su propio control el cual esta representado como la barra del 100%.

En cuanto al curso temporal del porcentaje de espigas PGO (Fig. 15; ●—●), la disminución provocada por el ác. kaínico en el área X, se presenta con una latencia de 1.5 hrs. después de la aplicación; este cambio se mantiene con pequeñas oscilaciones durante todo el intervalo muestreado y nunca llega a alcanzar la línea basal.

Comparando tanto el grupo de gatos con vehiculo que

con ác. kaínico (Fig. 15), se puede observar que en ambos casos los efectos de disminución no van más allá del 20% de la línea basal.

**CURSO TEMPORAL DEL PORCENTAJE
DE CAMBIO DE LAS ESPIGAS PGO
CON AC. KAINICO Y VEHICULO EN EL AX**

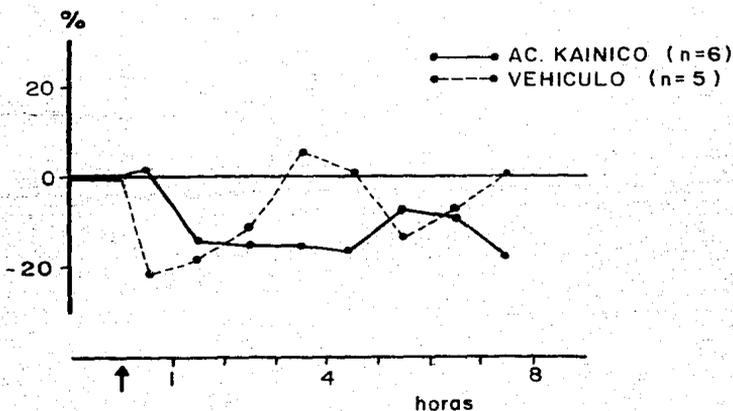


Fig. 15.- Comparación del % de cambio de la densidad de PGO con vehículo (•---•) y ác. kaínico en el área X (AX). Se observa en ambos casos que después de aplicado el kaínico (↑) no hay tendencia de retornar a la basal a lo largo del intervalo analizado (8 hrs), asimismo sus comportamientos de disminución no van más allá del 20%. El 0% corresponde a la línea basal.

8.1.3. Análisis Histológico.

8.1.3.1. Sitios de Microinyección de Ac. Kainico en el Área X.

Analizando los sitios de inyección en el área X (Fig. 16), se encontró que de los 6 gatos (12 sitios) que integran este grupo, 4 quedaron bilateralmente bien situados, es decir, hubo 8 sitios de inyección dentro de área X; los 2 animales restantes quedaron unilateralmente situados en área X. A partir de esta diferencia se realizó una comparación entre estos 2 grupos con el fin de contestar las posibles dudas que pudieran surgir con respecto a si el efecto observado era debido a la acción del kainato sobre el área X o sobre zonas aledañas.

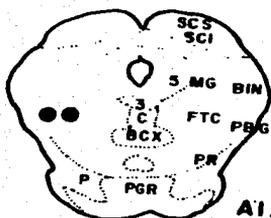
a) Sitios bilateralmente localizados en el área X.

La densidad de PGO en situación de control para este grupo fue de 25.88 ± 3.7 y con aplicación de kainato 22.43 ± 2 PGO/min dando un porcentaje de disminución del 13.3% estadísticamente no significativo (Ver Tabla 2; Fig. 17).

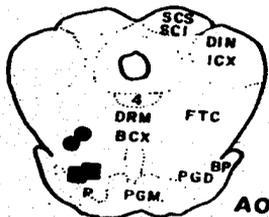
TABLA 2.- Valores promedio de la densidad de PGO en los sitios de inyección localizados en el área X de manera bilateral y unilateral. Las abreviaturas son las mismas que en la Tabla 1.

	n	\bar{X} (PGO/min)	E E	% CAMBIO	t_c	t_e	p
CONTROL	4	25.88	3.7				
AK-BILATERAL	4	22.43	2.0	-13.3	0.0882	2.3534	NS
CONTROL	2	35.30	5.0				
AK-UNILATERAL	2	32.08	2.3	- 9.1	1.2333	6.3138	NS

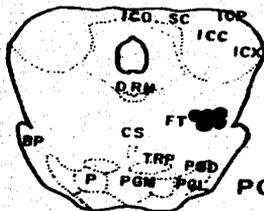
SITIOS DE MICROINYECCION EN EL AREA X



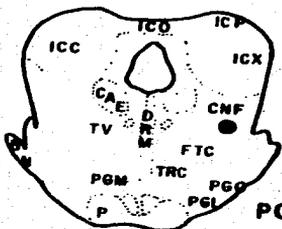
A1.6



A0.6



P0.2



P0.9

Fig. 16.- Esquema de cortes del tallo cerebral de gato donde se localizan los sitios de inyección de ác. Kainico en el área X. Los cuadros (■) indican los sitios unilaterales y los círculos (●) los bilateralmente bien situados dentro del área X.

En relación al curso temporal, representado en la Fig. 18 (---), la disminución se mantiene durante las 8 hrs de análisis sin tendencia de retornar a la basal, observándose el mayor decremento a las 7.5 hrs y cuyo valor es del 26% estadísticamente no significativo.

DENSIDAD DE PGO CON AC KAINICO EN EL AREA X BILATERAL, UNILATERAL Y SIN DISTINCION DEL DEL SITIO DE INYECCION

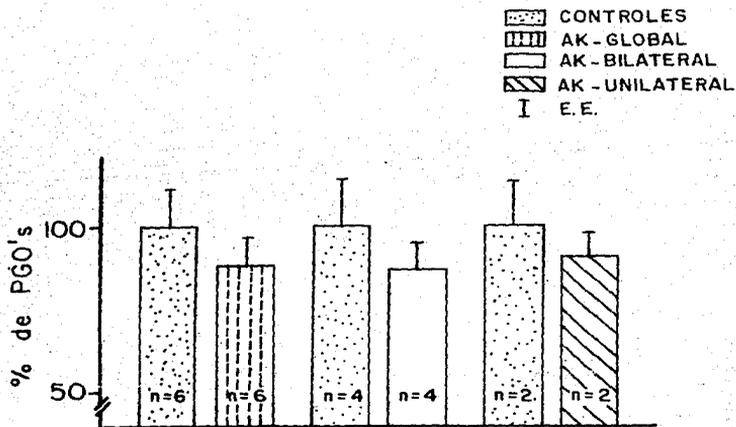


Fig. 17.- Hitograma comparativo de los efectos del ác. kainico (AK) en el área X bilateral, unilateral y sin distinción de sitios de inyección (análisis global) (Ver simbología en la gráfica).

b) Sitios Unilateralmente Localizados en el Area X.

En cuanto a los 2 gatos estimulados unilateralmente, la densidad de PGO's disminuyó un 9.1% (Tabla 2; Fig. 17) encontrándose en el curso temporal un pico máximo de disminución a las 1.5 hrs de administrado el ácido (Fig. 18). Esta disminución como se observa en la Fig. 18 (•---•), corresponde a un 30% estadísticamente no significativo; asimismo se puede observar que los 3 últimos puntos oscilan alrededor de la basal.

CURSO TEMPORAL DEL PORCENTAJE DE CAMBIO DE LAS ESPIGAS PGO CON AK SITUADO UNILATERAL, BILATERAL Y SIN DISTINCION DEL SITIO DE INYECCION EN EL AREA X

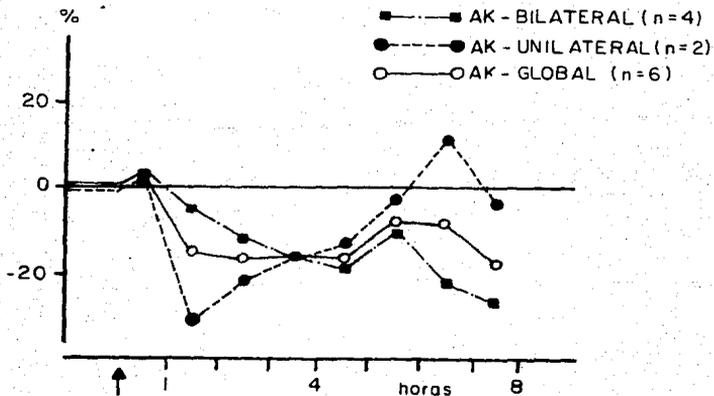


Fig. 18.- Se muestra la comparación del curso temporal del porcentaje de cambio de sitios con ác. kainico (AK) bilateral (■---■), unilateral (•---•) y con análisis global (○---○); en los 3 casos existen puntos en común (0.5 y 3.5 hrs).

Por otra parte, comparando el curso temporal del porcentaje de cambio de la densidad de PGO sin distinción de sitios de inyección (análisis global; $\circ \text{---} \circ$) con el curso temporal de los 2 grupos anteriores, se observa que no existen diferencias entre ellos ya que los 3 no tienen tendencia a retornar a la basal (Fig. 14); asimismo, sus disminuciones en la densidad de PGO con respecto a su propio control son muy parecidas (Fig. 13).

Por lo tanto de lo anterior se puede decir que a pesar de no encontrar efectos en la actividad PGO en el área X, los somas de esta región son sensibles al ác. kaínico, quedando esto último más claro si se observa la Fig. 19 en donde se presenta una fotografía en la cual se compara un sitio con ác. kaínico y otro con vehículo.

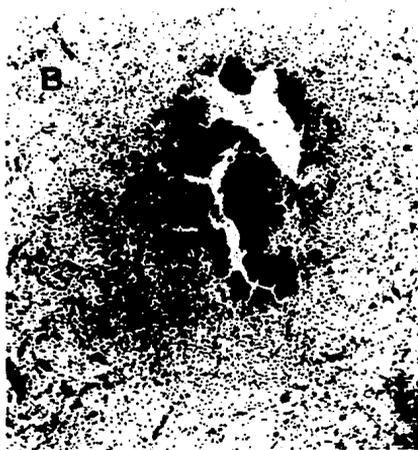


Fig. 19.- Fotomicrografía de la sección frontal derecha de los sitios de micro inyección en la formación reticular mesencefálica (área X), a nivel de A0.6. En A se muestra la inyección de vehículo y en B la inyección de ác. kainico (5 nmoleo/ μ l). Durante el período experimental de este estudio (8 hrs), es visible una reacción de gliosis marcada que circunda al sitio de inyección con el ác. kainico mientras que con vehículo no se observa esta reacción. (A 200 X; B 320 X).

En lo que respecta a los sitios de inyección del vehículo en esta región (Fig. 20), todos están dentro del área X por lo cual el análisis corresponde al mismo realizado anteriormente (Fig. 15).

SITIOS DE MICROINYECCIÓN DE VEHICULO EN EL AREA X

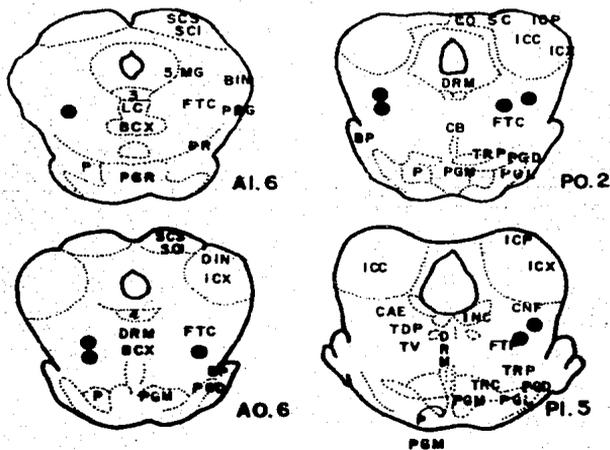


Fig. 20.- Cortés transversales de un tallo cerebral de gato. Se muestra que todos los sitios de inyección del vehículo en el área X quedaron bilateralmente bien situados.

8.2. MICROINYECCION DE VEHICULO Y AC. KAINICO EN EL CAMPO TEGMENTAL GIGANTO-CELULAR (FTG) (GRUPO II).

En este grupo se utilizaron los 14 gatos restantes, los cuales fueron divididos de la siguiente manera: 5 para la administración de vehículo (agua desionizada) y 9 para el ác. kaínico.

8.2.1. Vehículo.

La densidad promedio de PGO para este grupo en situación control fue de 18.12 ± 3.2 y con la aplicación de vehículo de 14.4 ± 2.1 PGO/min (Tabla 3); ésta disminución, como se observa en la Fig. 21 corresponde a un 21% con respecto a su control y resultó no ser estadísticamente significativa.

TABLA 3.- Valores promedio de la densidad de PGO obtenidos a partir de la aplicación bilateral de $1 \mu\text{l}$ de vehículo o ác. kaínico en el FTG.

	n	\bar{X} (PGO/min)	E E	% CAMBIO	t_c	t_e	p
CONTROL	5	18.12	3.2				
VEHICULO	5	14.40	2.1	-21	1.2539	2.7764	NS
CONTROL	9	23.41	3.1				
AK	9	22.95	4.6	- 2	0.1140	1.8595	NS

Al analizar el curso temporal del porcentaje del cambio provocado después de la aplicación del vehículo (Fig. 22; ----.), se puede observar que conforme transcurre el tiempo de análisis (8 hrs), hay una disminución paulatina sin tenden-

cia de retornar a la basal. El decremento más acentuado se observa a las 7.5 hrs y su valor es del 42% estadísticamente no significativo ($t_c = 2.7465$; $t_e = 2.7764$); a excepción de éste punto todas las muestras oscilan dentro de un rango del 10 al 30% de disminución con respecto al valor control (0%). Como se muestra en la Tabla 3, el análisis estadístico global de este cambio no mostró diferencias significativas en relación al control.

DENSIDAD DE PGO CON VEHICULO Y AC. KAINICO EN EL FTG.

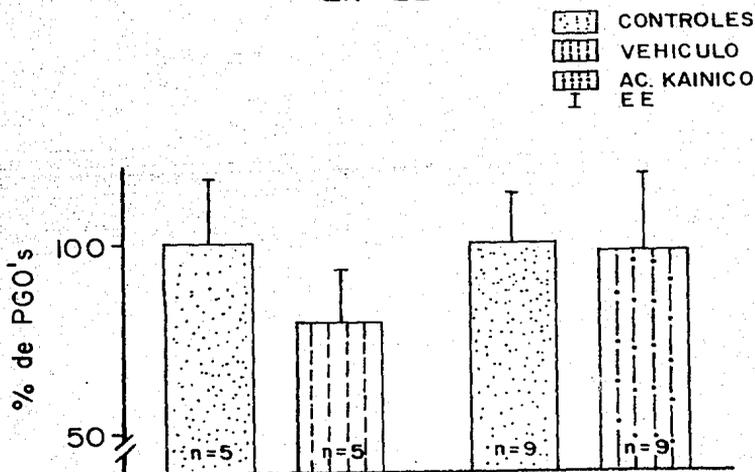


Fig.21.- Histograma que muestra el análisis global de los efectos provocados por el ác. kainico y el vehiculo en el FTG. Cada efecto esta comparado con su propio control el cual esta representado como la barra del 100%.

8.2.2. Ac. Kainico.

En este grupo el registro control mostró una densidad promedio de 23.41 ± 3.1 y con la aplicación "in situ" de ác. kainico 22.95 ± 4.6 PGO/min dando así un porcentaje de cambio del -2% con respecto a su control (Tabla 3; Fig. 21); según el análisis estadístico los cambios obtenidos en este caso no fueron significativos. En lo que respecta al curso temporal del porcentaje de la densidad de PGO, el cual está representado en la Fig. 22 (—), se observa que durante el intervalo muestreado (8 hrs) éste tiende a oscilar alrededor de la línea basal (0%). Asimismo, se puede apreciar un pico máximo a las 2.5 hrs de haberse aplicado el kainato y corresponde a un 5.13% de incremento con respecto a la basal. El decremento más acentuado se presenta a las 5.5 hrs y su valor es de 6.71%; los dos efectos máximos observados no son estadísticamente significativos.

Comparando los efectos del vehículo con los del ác. kainico representados en la Fig. 22, se puede observar que son totalmente distintos; así mientras el vehículo provoca una disminución en la densidad de PGO's sin tendencia de retornar a la basal, el kainato provoca una oscilación alrededor de la basal sin tendencia de incremento o disminución.

CURSO TEMPORAL DEL PORCENTAJE
DE CAMBIO DE LAS ESPIGAS PGO
CON AK Y VEHICULO EN EL FTG

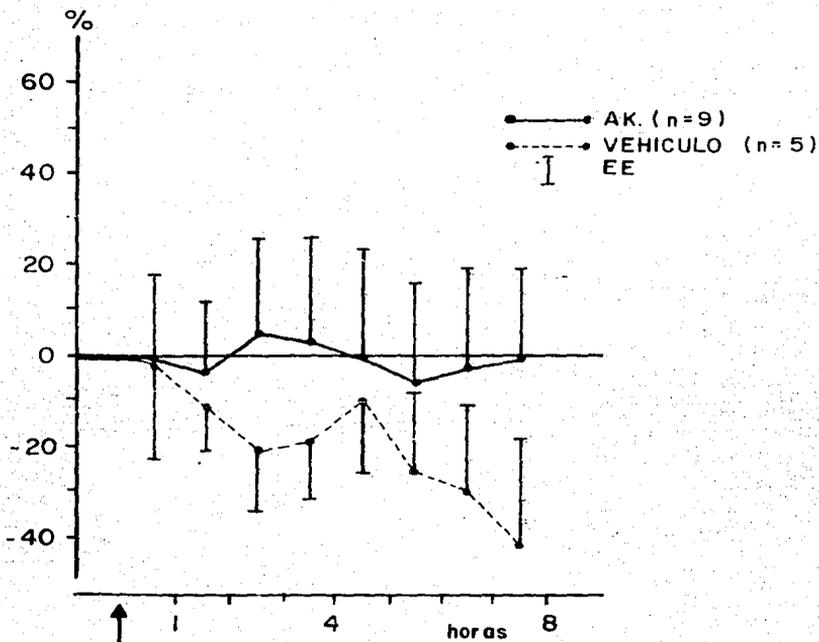


Fig. 22.- Comparación del porcentaje de cambio de la densidad de PGO con vehículo y ác. kainico administrados bilateralmente en el FTG. Los efectos provocados por cada uno de ellos son independientes entre si, observandose que el vehículo tiene una trayectoria de disminución durante las 8 hrs en tanto que el kainato una oscilación mantenida. El decremento más acentuado del vehículo se presenta en la última hora muestreada (7.5 hrs) y corresponde a un 42% que estadísticamente no es significativo.

8.2.3. Análisis Histológico (FTG)

8.2.3.1. Sitios de Microinyección de Ac. Káinico en el FTG.

Se localizaron 10 sitios bilateralmente situados en FTG (Fig. 23) es decir, de los 9 animales empleados para este grupo 5 quedaron bien situados (círculos negros); los 4 animales restantes (8 sitios) quedaron bilateralmente fuera de FTG (cuadros negros).

Teniendo en cuenta lo anterior se realizó una comparación entre estos 2 subgrupos de la misma forma en la que se realizó para el área X y con el mismo objetivo: encontrar si el efecto observado en esta región era debido a la acción del ác. káinico sobre el FTG.

a) Subgrupo bilateralmente situado en FTG.

Para este subgrupo como se muestra en la Tabla 4, el valor promedio de la densidad de PGO en situación de control fue de 20.20 ± 4 y con la aplicación de ác. káinico 20.35 ± 7 dando un porcentaje de cambio del 0.74% de incremento que analizado estadísticamente resultó no ser significativo (Fig. 24).

TABLA 4.- Valores promedio de la densidad de espigas PGO en los sitios de inyección localizados bilateralmente dentro y fuera de FTG.

	n	\bar{X} (PGO/min)	E E	% CAMBIO	t_c	t_e	p
CONTROL DENTRO DE	5	20.20	4.0				
AK- FTG BILATERAL	5	20.35	7.0	0.74	0.0234	2.1318	NS
CONTROL	4	27.30	5.0				
AK-FUERA DE FTG	4	26.20	6.0	-4.0	0.3304	2.3534	NS

SITIOS DE MICROINYECCION DE AC. KAINICO EN EL FTG

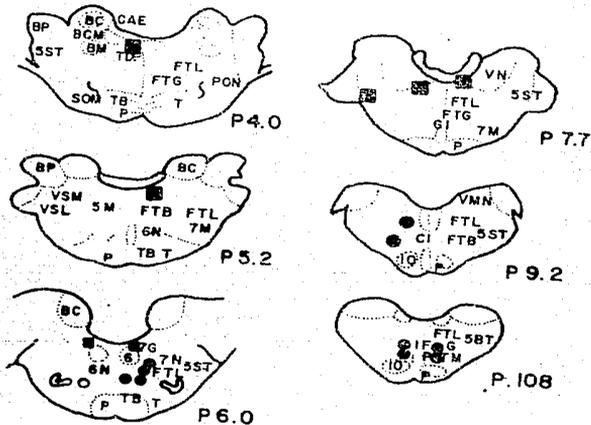


Fig. 23.- Análisis histológico de los sitios de inyección el FTG de ác. kainico. Los cuadros representan los sitios con ác. kainico fuera de FTG y los círculos los sitios dentro de FTG.

Analizando el curso temporal del porcentaje de espigas PGO de este subgrupo, representado en la Fig. 25 (○--○), se observa la presencia de 2 picos máximos posteriores a la aplicación del kaínato; el primero se presenta a las 0.5 hrs (máximo decremento) y el segundo a las 3.5 hrs (máximo incremento), sus valores son del 20 y 19% respectivamente y estadísticamente no son significativos. A pesar de la presencia de estos 2 "picos" y de acuerdo a los 3 últimos puntos graficados, es claro que el efecto del ác. kaínico sobre la actividad PGO es de oscilar alrededor de la basal sin tendencia aparente de incremento o disminución.

DENSIDAD DE PGO CON AC. KAINICO FUERA, BILATERAL Y SIN DISTINCION DEL SITIO DE INYECCION

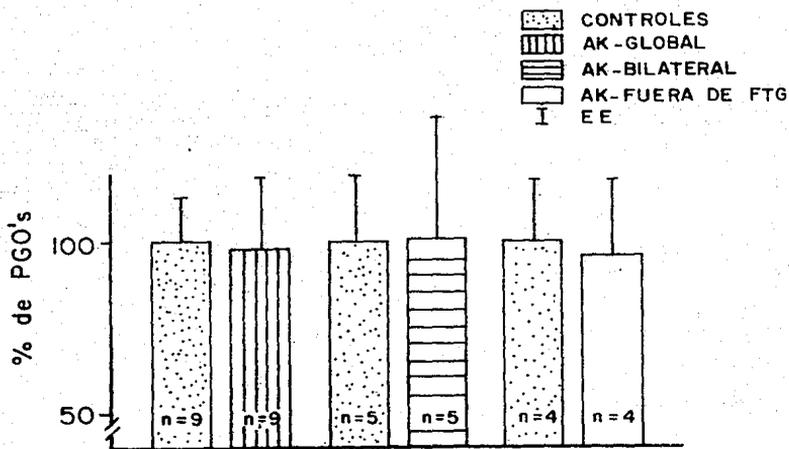


Fig.24.- Histograma que muestra el análisis del efecto del ác. kaínico en los sitios de inyección del FTG comparado con el análisis global. (Ver simbología en la gráfica).

b) Subgrupo fuera de FTG.

En lo que respecta a los 8 sitios (4 animales) fuera de FTG (Fig. 23) se obtuvo que la densidad promedio de PGO en situación control fue de 27.30 ± 5 PGO/min y con ác. kaínico de 26.20 ± 6 lo cual corresponde a un porcentaje de cambio del 4% de disminución estadísticamente no significativo (Tabla 4; Fig. 24). En relación al curso temporal (Fig. 25; ●—●), a los 0.5 hrs de aplicado el ácido, se presenta un pico de incremento del 16% no significativo estadísticamente, sin embargo a partir de este momento, la disminución se mantiene a lo largo de las 7 lecturas siguientes siendo el 12% de disminución el máximo punto de decremento (3.5 hrs).

CURSO TEMPORAL DEL PORCENTAJE DE CAMBIO DE LAS ESPIGAS PGO CON AK SITUADO FUERA, BILATERAL Y SIN DISTINCIÓN DEL SITIO DE INYECCION EN EL FTG

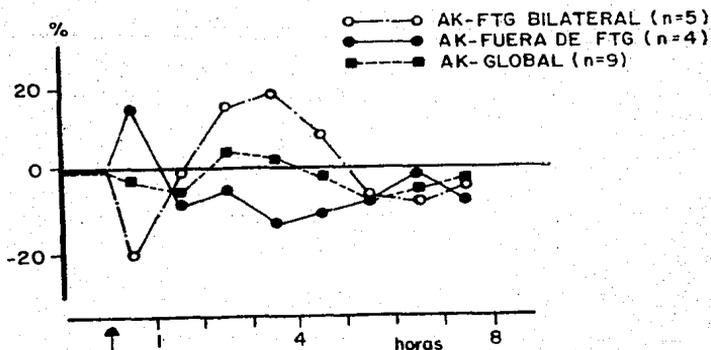


Fig. 25.— Comparaciones de cursos temporales con y sin distinción de los sitios de inyección en FTG con ác. kaínico (AK). Se observa que el porcentaje de cambio de PGO con AK bilateral en FTG (○---○) y fuera de FTG (●—●) tienen trayectorias totalmente opuestas.

Comparando el curso temporal de ambos grupos (Fig. 25) se observa que tienen trayectorias totalmente opuestas desde el inicio de aplicado el ácido, así se observa que en los bilaterales hay un mayor número de puntos de incremento y tendencia de retornar a la basal en tanto que en el grupo fuera de FTG hay mayor frecuencia de puntos de disminución sin tendencia de incremento.

8.2.3.2. Efecto del Ac. Káinico a Distintos Niveles del FTG.

Al analizar de manera individual el efecto del ác. káinico en cada uno de los sujetos experimentales, se encontró que éste tenía distintas tendencias dependientes del nivel al cual se aplicaba. Como se puede apreciar en la Fig. 23, los sitios de inyección están distribuidos en un buen tramo del tallo cerebral pontino; asimismo se puede observar que algunos sitios (que también se encuentran dentro de FTG) concuerdan en un mismo nivel, como por ejemplo: a nivel del VI par (P 6.0) y a nivel del FTG caudal (P 10.8).

A partir de estas observaciones y tomando como base el trabajo realizado por Hobson y col. (en prep.), en donde administran tópicamente caracol (CAR) en distintos puntos del tallo cerebral y encuentran que el efecto del CAR es dependiente del sitio en el cual se aplique dentro del FTG (Ver referencia y Fig. 26 para más detalle), se decidió realizar un análisis semejante para el ác. káinico. Para la realización de este análisis se tomaron en cuenta los sitios que están a nivel del VI par y a nivel del FTG caudal por ser estos los que involucran la mayor parte de sitios dentro de FTG (ya sea bilateral o unilateral) y por concordar a un mismo nivel.

a) Ac. Káinico a nivel del VI par.

Este grupo involucra 5 sitios de 4 animales. Al analizar la densidad de PGO's se obtuvo que el valor promedio en situación de control fue de 18.14 ± 4.5 PGO/min y con ácido káinico de 28.14 ± 13.23 correspondiendo a un incremento del 55.13% que estadísticamente resultó ser significativo (Tabla 5; Fig. 27).

En lo que respecta al curso temporal, como se observa en la Fig. 28 () hay un pico máximo aproximadamente a las 2.5 hrs posterior a la aplicación de ácido káinico, este incremento corresponde al 81% con respecto a la basal y analizado estadísticamente resultó ser significativo ($p < 0.05$; $t_c = 3.1182$, $t_e = 2.3534$); existe otro incremento del 84% a las 3.5 hrs que también es significativo y otro a las 4.5 hrs del 78% también significativo.

b) Ac. Káinico en FTG caudal.

En este grupo formado por 2 animales (4 sitios), la densidad promedio de PGO en situación de control es de 24.12 ± 0.25 PGO/min y con ác. káinico de 8.18 ± 0.42 lo cual corresponde, como se muestra en la Tabla 5 y en la Fig. 27, a un porcentaje de cambio del 66% de disminución con respecto a su control que analizado estadísticamente es significativo ($p < 0.005$; $t_c = 96.6354$, $t_e = 6.3188$). Como se observa en la Fig. 28, la disminución se mantiene a lo largo de todo el curso temporal muestreado presentandose 4 decrementos máximos a las 2.5, 3.5, 4.5 y 5.5 hrs de administrado el kainato; todos son significativos estadísticamente y corresponden a

LOS SINDROMES ELECTROGRAFICOS PRODUCIDOS POR CARBACOL SON
DEPENDIENTES DEL SITIO DE MICROINYECCION

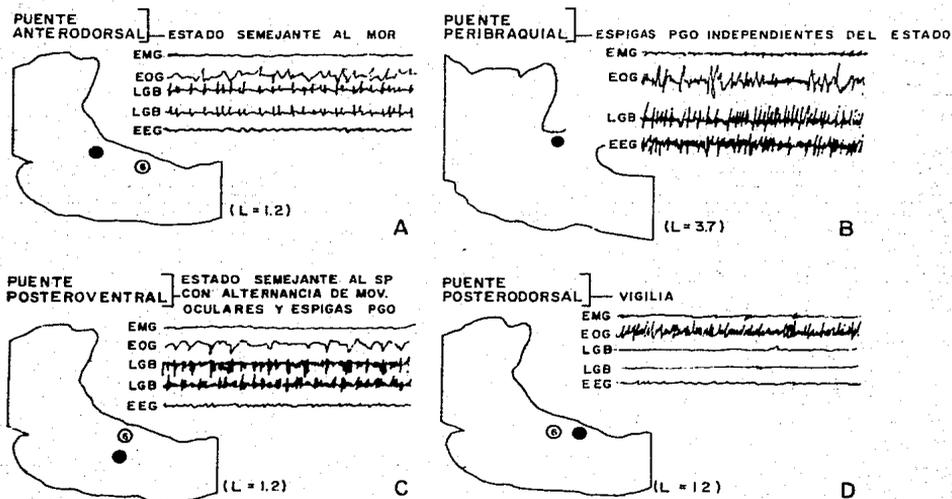


Fig.26.- Esquemas sagitales del tallo cerebral del gato que muestra los sindromes evocados por microinyección de carbacol dentro de 4 diferentes regiones del tallo cerebral. Los círculos negros indican el sitio de inyección. (Tomada de Hobson y col., en prep.).

TABLA 5.- Valores promedio de la densidad de PGO con ác. kaínico a nivel del VI par (P 6.0) y en FTG caudal (P 10.8).

	n	\bar{X} (PGO/min)	E E	% CAMBIO	t _c	t _e	p
CONTROL	4	18.14	4.5				
AK-VI PAR	4	28.14	13.23	55.13	2.6490	2.3534	0.05
CONTROL	2	24.12	0.25				
AK-EN FTG CAUDAL	2	8.18	0.42	-66.11	96.6364	6.3138	0.005

DENSIDAD DE PGO CON AC. KAINICO EN EL FTG A NIVEL DE VI-PAR, FTG CAUDAL Y SIN DISTINCION DEL SITIO DE INYECCION

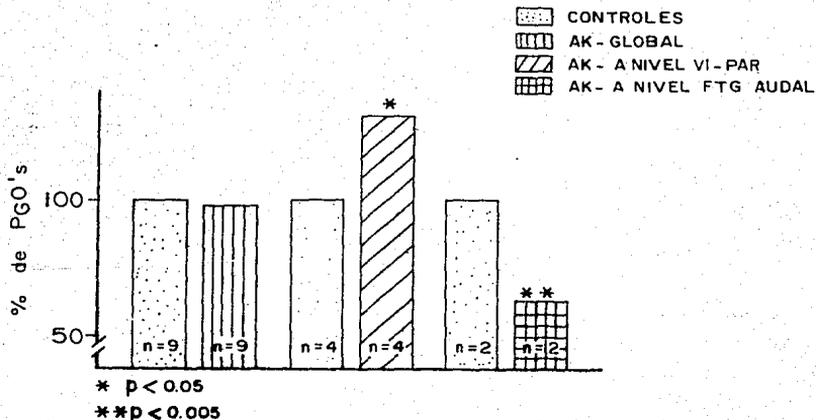


Fig.27.- Histograma comparativo de los efectos del ác. kaínico (AK) en el FTG a nivel de VI par, FTG caudal y sin distinción del sitio de inyección (análisis global).

un 74%, 78%, 74% y 76% respectivamente y con respecto a la basal.

**CURSO TEMPORAL DEL PORCENTAJE DE CAMBIO DE LAS ESPIGAS PGO
CON AK A NIVEL DE VI PAR, FTG CAUDAL Y SIN DISTINCION
DEL SITIO DE INYECCION**

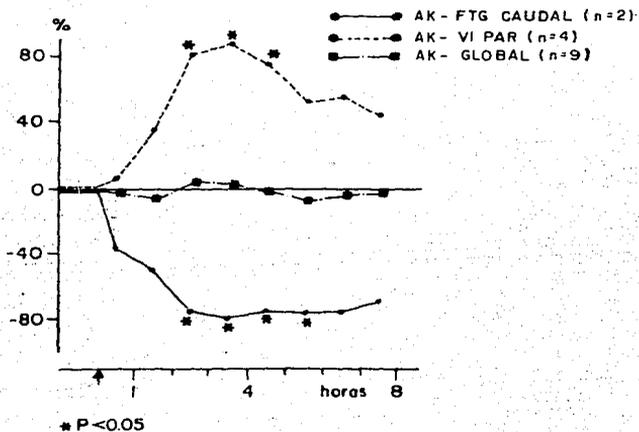


Fig. 28.- Comparaciones de los cursos temporales de los sitios de inyección de FTG. Se muestran los efectos del ác. káínico sobre los potenciales PGO a distintos niveles del FTG; los asteriscos (*) indican los puntos de incremento o disminución estadísticamente significativos. Asimismo, se observa la comparación de estos 2 subgrupos con el análisis global.

Comparando tanto la densidad de espigas PGO (Fig. 27) como el curso temporal de ambos grupos (Fig. 28), se observa claramente que la acción del ác. kainico tiene distintos efectos dependientes del nivel al cual se aplique dentro del FTG; así, se encuentra que a nivel de VI par hay una tendencia a incrementar la densidad de PGO en tanto que en el grupo situado en el FTG caudal una disminución mantenida a lo largo de todo el intervalo definido en el análisis; ambos efectos resultaron ser significativos y en sus cursos temporales no hay tendencia de retornar a la basal.

Por otra parte, es claro que cuando estos 2 grupos son analizados conjuntamente anulan los efectos que el kainato provoca en ellos por separado, dado como resultado que al ser agrupados los datos de los 9 gatos para el análisis global (Fig. 28;), no se vea ningún efecto de incremento o disminución.

8.2.3.3. Sitios de Microinyección de Vehículo en FTG.

En cuanto al vehículo de esta región, los sitios de inyección se encuentran más o menos distribuidos en los mismos niveles que los de ác. kainico (Fig. 29); sin embargo, a diferencia del kainato, en el vehículo no es posible agrupar puntos de inyección a un mismo nivel, por lo que se realizará el análisis de los sitios que quedaron bilateral y unilateralmente en el FTG.

a) Sitios bilateralmente localizados en FTG.

Hubo 6 sitios de 3 animales y la densidad promedio de PGO con vehículo disminuyó un 16% con respecto al control (Tabla 6; Fig. 30), sin ser significativa esta diferencia.

En cuanto al curso temporal se observa en la Fig. 31 que esta disminución, a excepción de los primeros 0.5 hrs, persiste durante todo el intervalo muestreado sin tendencia de retornar a la basal, asimismo se observa que la mayor parte de sus puntos oscilan en un 20% presentándose el máximo decremento a las 7.5 hrs de administrado el ác. kaínico; el valor de este punto es del 36.3% y estadísticamente es significativo ($t_c = 5.6681$, $t_e = 4.3027$).

SITIOS DE MICROINYECCION DE VEHICULO EN EL FTG

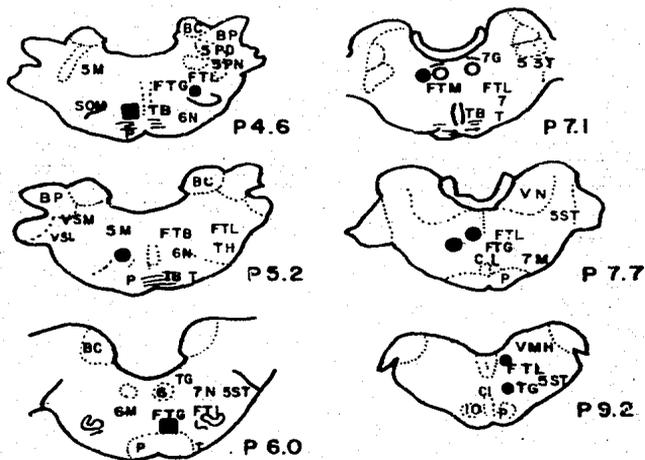


Fig. 29.- Se observan los sitios en donde fue aplicado el vehiculo en el FTG. Los cuadros significan los sitios fuera de FTG y los circulos dentro de FTG.

TABLA 6.- Valores promedios de la densidad de espigas PGO en los sitios con vehículo en FTC bilateral y unilateralmente.

	n	\bar{X} (PGO/min)	E E	% CAMBIO	t_c	t_e	P
CONTROL	3	18.00	3.5				
V-BILATERAL	3	15.16	3.7	-16	0.9915	4.3027	NS
CONTROL	2	18.31	8.2				
V-UNILATERAL	2	13.22	0.4	-27.8	0.6501	12.706	NS

V = vehículo

b) Sitios unilateralmente localizados en FTC.

En cuanto a estos sitios (2 sitios de 2 gatos) su densidad de PGO fue de 18.31 ± 8.2 PGO/min y con vehículo se vió disminuida no significativamente en un 27.8% (Tabla 6; Fig. 30). En el curso temporal se mantuvo con disminución durante todo el análisis y como se observa en la Fig. 31, hubo un pico máximo de decremento no significativo del 52% con respecto a la basal en la última hora muestreada ($t_c = 1.1343$, $t_e = 12.706$).

DENSIDAD DE PGO CON VEHICULO BILATERAL
UNILATERAL Y SIN DISTINCION DEL SITIO
DE INYECCION EN EL FTG

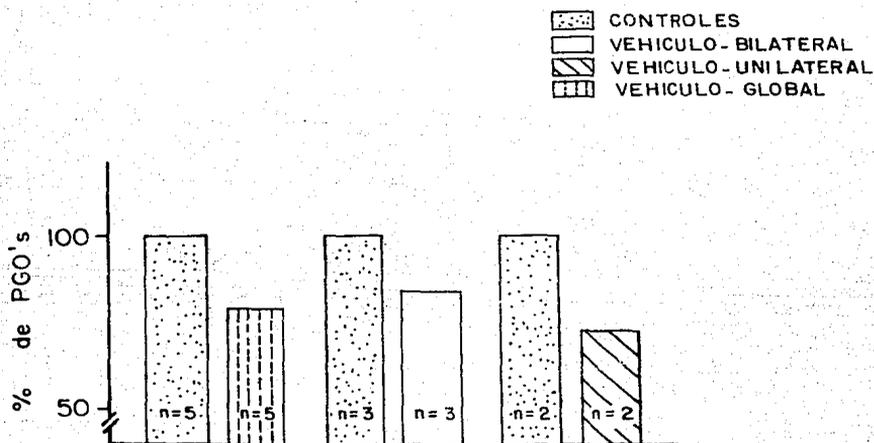


Fig.30.- Histograma comparativo de los efectos del vehiculo (V) en el FTG bilateral, unilateral y sin distinción de sitio de inyección (análisis global).

Comparando ambos grupos en el curso temporal (Fig. 31 A) es claro que no tienen tendencia a retornar a la basal y sí a disminuir la densidad de PGO. Sin embargo, ante la posible duda de que el vehículo inhiba la acción del ác. kaínico es claro que de ser esto cierto no se habría encontrado el efecto de incremento observado en los sitios a nivel de VI par (Fig. 31 B).

Por otra parte comparando el curso temporal global con el de los 2 subgrupos antes mencionados se puede observar (Fig. 31 A) que éste en su trayectoria es más semejante a la de los sitios bilaterales puesto que en ambos la mayor parte de sus puntos oscilan entre el 20 y 45% de disminución.

3.2.4. Comparación de los Efectos Provocados por el Ac. Kaínico en el área X y FTG.

Comparando el curso temporal del porcentaje de cambio de las espigas PGO en el área X y FTG, se observa que la acción del ác. kaínico tiene distintos efectos dependientes del sitio de aplicación; lo anterior se muestra en la Fig. 32 en donde se compara la acción del ác. kaínico en las dos regiones estudiadas, así se observa que para el caso del área X, el kaínato provoca una disminución no significativa que se mantiene durante todo el análisis. Por otro lado, la aplicación del ác. kaínico en el FTG no produce cambios significativos en la actividad PGO si se analiza globalmente (Fig. 32) pero si se analiza por niveles de inyección (Fig. 33), se observa un efecto de incremento (53.1%) a nivel del VI par (AP = 6.5 P) y uno de disminución (66.11%) a nivel del FTG caudal (10-11 P) siendo ambos estadísticamente significativos ($p < 0.05$). De lo anterior se concluye que la aplicación tópica de ác. kaínico produce efecto diferencial dependiente del sitio.

CURSO TEMPORAL DEL % DE CAMBIO DE LAS ESPIGAS
PGO CON VEHICULO EN FTG BILATERAL, UNILATERAL
Y SIN DISTINCION DEL SITIO DE INYECCION

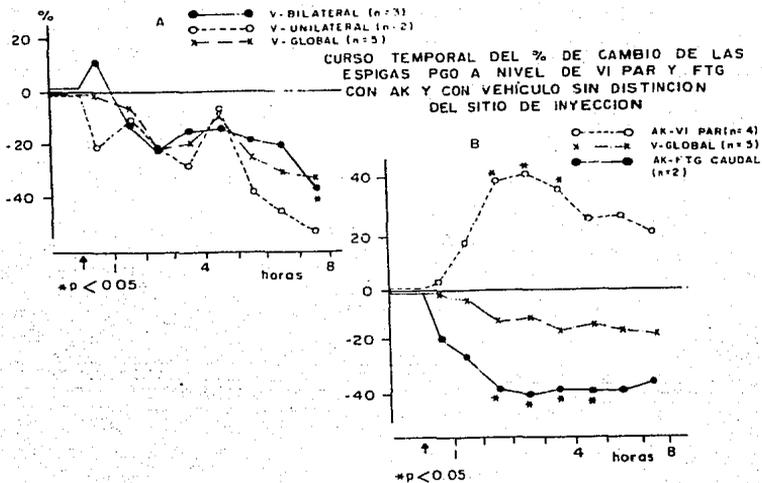


Fig.31.- En la gráfica A se hace una comparación de los cursos temporales del % de cambio con vehículo en el FTG bilateral y unilateral y sin distinción de sitio de inyección (análisis global); en los 3 casos el efecto es de disminución encontrándose sólo en los bilaterales un punto de decremento significativo (*). En B se compara los cursos temporales de los sitios con ác. kainico a nivel de VI par y FTG caudal así como el del vehículo global, con lo cual se trata de demostrar que el vehículo no resta potencia al kainato, pues de ser así no se observarían los efectos significativos de incremento a nivel del VI par.

CURSO TEMPORAL DEL PORCENTAJE DE CAMBIO DE LAS ESPIGAS PGO
CON AC. KAINICO EN AREA X. Y
FTG

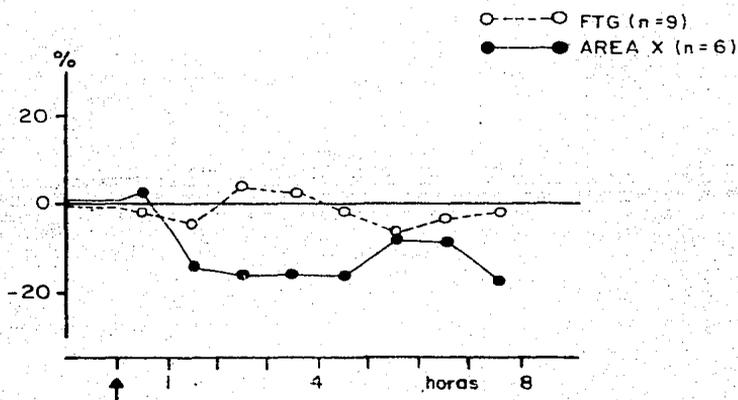


Fig. 32.- Los efectos del ác. kainico sobre el curso temporal de la actividad PGO son dependientes del sitio en el cual se aplique, así se observa que durante todo el intervalo muestreado hay una disminución no significativa en el área X (●---●) en tanto que en el FTG no existe ninguna tendencia de incremento o disminución (○---○), analizado globalmente.

PORCENTAJE DE CAMBIO CON AC. KAINICO
EN EL AREA X Y FTG

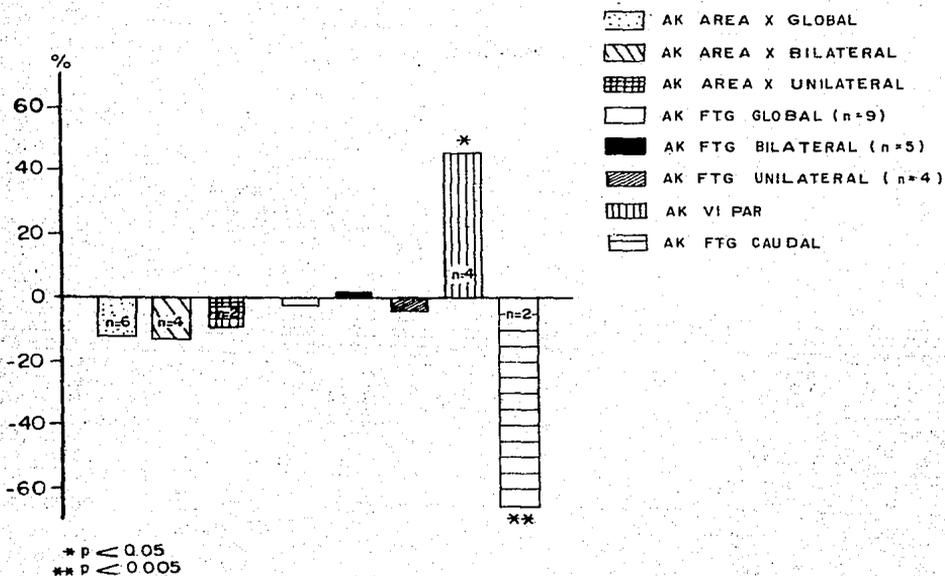


Fig. 33.- Histograma que muestra de manera comparativa los porcentajes (%) de cambio obtenidos a partir de la administración de kainato en el área X y FTG con y sin distinción del sitio de inyecciones (Ver simbología en la gráfica).

9.0. DISCUSION Y CONCLUSION

Los resultados en el presente estudio no fueron los esperados de acuerdo a las hipótesis que se plantearon al inicio del mismo; en ellas se proponía que si alguna de las regiones estudiadas en este trabajo, FTG o área X, fuera la generadora de los potenciales PGO, como Hobson (1974 a, b) y Sakai (1985) las propusieron respectivamente, al aplicarles ác. kainico se encontraría un incremento significativo en la densidad de dichas espigas, el cual sería provocado por la excitación neuronal llevada a cabo por este aminoácido.

Para comprobar o descartar dichas hipótesis se analizaron como se había planteado, los cambios en la densidad de la actividad PGO provocados por la acción excitadora del ác. kainico en cada una de las regiones. Al analizar dichos cambios se encontró que la acción del kainato depende de la región en donde se aplique, puesto que el efecto provocado por el ác. kainico en el área X es de disminución y aunque no es significativa no tiene tendencia a retornar a la línea basal (Ver fig. 28); asimismo, se encontró que esta disminución fue debida a la activación somal de las células de esta región. En el caso del FTG se encontró, que el efecto del ác. kainico no produce ningún cambio significativo si éste es analizado globalmente, sin embargo, si se analiza por sitios de inyección se observan efectos significativos de incremento (a nivel de VI par) y de disminución (FTG caudal).

Resulta difícil explicar las razones por las cuales los resultados obtenidos en este trabajo fueron negativos, ya que esto implica tratar de encontrar algunas razones por las cuales el ác. kainico no provocó la excitación esperada,

que de acuerdo a sus características (Ver capítulo tres), debía dar en alguna o en las dos regiones estudiadas; es por esto que de acuerdo a la discusión crítica de la literatura revisada y los resultados del trabajo, se ponen a consideración las posibles causas por las cuales los resultados obtenidos no fueron como se esperaban.

9.1. AREA X

1) El ác. kaínico puede no tener efecto excitador sobre ésta región.

Si bien el ác. kaínico es un potente aminoácido neuroexcitotóxico, es importante considerar lo que en investigaciones hechas por Herndon y col., (1978), Nadler (1978) y Olney (1978), encontraron sobre la sensibilidad neuronal que existe en algunas regiones hacia el ác. kaínico; dichos autores encontraron que algunos tipos de células pueden ser más sensibles que otras a los efectos tóxicos de ác. kaínico, lo cual implica que también lo son a su excitación. Asimismo, Colonnier y col. (1979) sostiene lo anterior al encontrar que las células del núcleo mesencefálico del trigémino muestran una resistencia selectiva y absoluta hacia el ác. kaínico, sobreviviendo dentro del campo tectal medial donde todos los tipos celulares desaparecen; estas neuronas resistentes son las únicas que no fueron activadas por la aplicación iontoforética de Glu o ác. kaínico (DeMontigny y col., 1980); por lo tanto, podría considerarse al área X como una de las regiones donde la acción del ác. kaínico no se hace patente, posiblemente debido a la insensibilidad de estas neuronas al kainato. Sin embargo, existen evidencias que muestran que el área X es una región sensible al ác. kaínico. Como se recordará, el área X se encuentra dentro de la formación reticular mesencefálica (FRM), dicha región fue estudiada por Kitsikis y col.,

(1981) con el objeto de estudiar el ciclo vigilia-sueño durante la excitación inducida por ác. kaínico ($0.25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ a $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) y después de la destrucción de la neuronas de la FRM. Kitsikis realiza su investigación en gatos crónicos y encuentra dentro de los efectos de excitación (los cuales fueron estudiados durante las primeras 8 hrs) durante la vigilia, dilatación de pupilas, piloerección, respiración acelerada, actitud "congelada" con completa carencia de expresión facial y sólo una ligera o inexistente reacción de orientación; estos efectos se observaron a los 5-10 min de haberse aplicado la primera inyección y su duración fue de 1 a 4 hrs. interrumpidas solamente por el comportamiento de tipo alucinatorio, el cual empieza en la primera hora después de la inyección; asimismo encuentran una desincronización del EEG que inicia a los 20 a 30 seg. después de la inyección y dura aproximadamente unas 12 a 14 hrs, con ausencia de ritmo alfa y espigas u ondas lentas, todos estos efectos son prueba de que esta región sí es excitada y por consiguiente sensible al ác. kaínico. Además según el curso temporal de los efectos antes mencionados es el mismo rango de análisis de este estudio.

En el laboratorio en donde se realizó esta tesis, se llevaron acabo estudios pilotos en condiciones semejantes al realizado por Kitsikis y col.; a grandes rasgos, el objetivo era lesionar el área X de gatos en preparación crónica y observar si hay algún efecto en la actividad PGO para comparar paralelamente con los efectos del ác. kaínico en gatos en preparación aguda (efectos de excitación). Aunque las alteraciones conductuales no son el objetivo de este estudio, se ha podido constatar manifestaciones reportadas por Kitsikis y col., Tres fueron los gatos que se utilizaron y es importante mencionar que en 2 de ellos se observó la actitud "congelada" con una inexistente reacción de orientación; el tiempo en el que se presentó dicha actitud es el mismo que Kitsikis

y col., reportan; además, se llegó a determinar un cuadro clásico de catatonia, ya que el animal presentaba rigidez "cerea", manteniendo por largos períodos posturas aberrantes impuestas por el experimentador.

Desafortunadamente este trabajo se está realizando actualmente por lo cual no se tienen aún resultados concluyentes de las alteraciones provocadas por el ác. kaínico aplicadas en el área X.

2) CONSIDERACIONES PRACTICAS

La manipulación adecuada de alguna herramienta de trabajo en cualquier tipo de investigación es de suma importancia y lo es más si de ella van a partir los objetivos centrales de la investigación, pues de la herramienta dependerán en gran parte los resultados que se obtengan.

La herramienta central de este trabajo es el ác. kaínico y las consideraciones prácticas que se tomaron en cuenta para su manipulación, tanto para el área X como para el FTG, son las que McGeer y col., (1978) describieron para conseguir la eficiencia máxima de los efectos del ác. kaínico, ya sea como agente excitador o neurotóxico; las consideraciones prácticas para el uso adecuado del ác. kaínico son: la concentración de la solución, su estabilidad y la velocidad a la cual se inyecte; esta última junto con el volumen total en que se administre, son para Nadler y col., (1978) y McGeer y col., de las más importantes. En esta última investigación McGeer y col., observan que si en un tiempo de 5 min. se inyectan 5 nmoles/ μ l se obtiene el mejor resultado sin llegar a extremos perjudiciales, de ahí el hecho de escoger esta cantidad, volumen y tiempo para la realización de este trabajo. Por otra parte se procuró que la solución a utilizar fuera fresca y conservada a temperatura de -20°C como también lo

recomiendan estos autores (Ver capítulo 3).

Por lo tanto, si las condiciones en las que se manejó el ác. kaínico son las adecuadas y según Kitsikis la FRM es sensible a éste sólo faltaría preguntarse:

3) ES EL AREA X LA REGION GENERADORA DE LA ACTIVIDAD PGO?

Las evidencias que se tienen hasta aquí sugieren que la respuesta a esta pregunta es negativa. Sin embargo, el contestar de una manera contundente, basándonos tan solo en este trabajo, no sería válido pues es obligación de cualquier investigador buscar, ya sea en literatura o en investigaciones realizadas por él mismo, evidencias que respalden su trabajo.

Como se dijo anteriormente, esta tesis formó parte de una serie de investigaciones enfocadas al conocimiento de la o las zonas generadoras de la actividad PGO y a las herramientas útiles para su estudio, por lo tanto se considera válido mencionar a grandes rasgos algunos trabajos que respaldan la sugerencia dada anteriormente.

Manjarrez y col., (1985) realizaron lesiones electro-líticas en el área X de gastos en preparación aguda y registran el efecto que tiene esta sobre la actividad PGO; las regiones que registran son las que dan nombre a dichas espigas, es decir, NGL, corteza occipital (Cx) y VI par. Los resultados obtenidos son: tanto las PGO de la Cx como las del VI par (puente) no sufren ningún cambio con la lesión uni y bilateral del área X, no así las del NGL las cuales desaparecen; a la conclusión que llegan es que el área X es importante sólo para el NGL no apoyando que ésta sea la región generadora de las PGO.

Por otra parte y de manera paralela a esta tesis, Díaz y col., (1986) aplican Carbacol (CAR) en el área X de gatos en preparación aguda con el fin de valorar si esta región es el sitio de acción del efecto del CAR sobre las PGO; los datos que encuentran son: cuando administran CAR en el área X no hay cambios significativos en la densidad de PGO's concluyendo que el área X no es el sitio de acción de los efectos del CAR sobre la actividad PGO, descartando así un papel activador colinérgico de dichas células. De esta forma los resultados de Díaz y col., tampoco apoyan la hipótesis propuesta por Sakai (1985).

El último trabajo que se mencionará es el de Bello y col., (1987) referente a secciones posteriores al área X de gatos agudos; ellos al igual que éste y los otros trabajos registran el NGL de manera bilateral así como los VI pares. A grandes rasgos, los resultados que obtienen son los siguientes: al realizar una sección posterior al área X se suprimen las PGO del NGL pero las del VI par no, hecho que debería suceder si el área X fuese el generador de esta actividad, por lo tanto, tampoco apoya la hipótesis de Sakai (1985) y respalda los datos reportados por esta tesis.

Como se puede apreciar los tres trabajos antes mencionados destruyen o excitan tanto somas como axones de paso de ahí la importancia de haber realizado un trabajo en donde se utilizara el ác. kainico, pues a partir de los resultados obtenidos se tendría una visión más clara del papel del área X con respecto a las PGO.

Hasta aquí sólo se ha considerado y discutido el área X; a continuación se discutirá al FTG tomando en cuenta los mismos puntos que los del área X.

9.2. FTG

1) El ác. kaínico puede no tener efecto excitador sobre esta región.

Considerando las mismas evidencias de el área X es probable que el FTG no sea sensible al ác. kaínico y por eso no se encontró ningún efecto por parte de éste. Sin embargo, al igual que en el área X, existen evidencias que muestran lo contrario. Sastre y col., (1981) con el objeto de estudiar el efecto de las lesiones electrolíticas del área tegmental gigantocelular pontina y bulbar sobre el SP y compararlos con los efectos de las lesiones de ác. kaínico de las mismas áreas sobre el SP encuentran que las neuronas del FTG son extremadamente sensibles (muy lesionadas) al kainato. Por otra parte Drucker-Colín y col., (1983) con el objeto de resolver preguntas concernientes a la mediación colinérgica del sueño MOR, aplican ác. kaínico en las neuronas del FTG por ser éstas las descritas como mejores candidatas para la generación del sueño MOR; al igual que Sastre y col., observan que éstas células son sensibles al ác. kaínico.

Es claro que para encontrar tal sensibilidad del FTG al ác. kaínico estos autores debieron observar efectos excitatorios para posteriormente encontrar las lesiones que mencionan. Sin embargo, a diferencia de las evidencias en las que se basa Kitsikis para decir que la FRM es sensible al ác. kaínico, tanto Drucker-Colín y col. como Sastre y col., no analizan la acción excitadora (aguda) que ejerció el ác. kaínico antes de producir la lesión. Sin embargo, a pesar de las evidencias que tienen hasta ahora, es difícil decir que el kainato tiene una acción excitadora en el FTG pues faltan evidencias suficientes, bien especificadas, para llegar a una conclusión.

2) Es el FTG el generador de la actividad PGO?

Basandose en los resultados obtenidos en este trabajo, la respuesta a esta pregunta es negativa y lo es aún más si se apoya en los trabajos de Sastre y col. (1981) y Drucker-Colín y col., (1983), pues independientemente de que no mencionen excitación por parte del ác. káinico al FTG, sí hubo lesión de éste (Ver referencias de ambos autores para mayor detalle); a la conclusión que llegan ambos autores son: Sastré y col., "las células gigantes del FTG no juegan ningún papel significativo ya sea al inicio del SP o en la generación de los componentes fásicos o tónicos del mismo". Por otra parte para Drucker-Colín y col., ... "las células del FTG no son esenciales para el SP porque éste es el resultado de la activación de varios grupos de neuronas como se había sugerido (Drucker-Colín y col., 1982; McGinty y col., 1982) pero quizá estas células y su activación colinérgica son la parte integral del sistema".

Sin embargo existen evidencias que apoyan al FTG como posible generador de las espigas PGO. Díaz y col., (1986) en el mismo trabajo mencionado en la parte de área X de esta misma discusión, compara los efectos que tiene el CAR en el área X y en el FTG encontrando que a diferencia del área X, en el FTG se observa un incremento en la densidad de PGO apoyando de esta manera los resultados de Hobson, (1974 b), Baghdoyan y col., (1984) y Vivaldi y col., (1980); asimismo, no encuentra ninguna diferencia en el patrón y en la densidad de PGO cuando el CAR es aplicado sistémicamente y cuando lo es tópicamente apoyando así la hipótesis de Hobson (1974 a).

Como se dijo anteriormente este trabajo no apoya la hipótesis de Hobson, sin embargo hay que considerar que el FTG es una estructura bastante grande que ni Sastre y col.,

los autores obtienen son muy similares a los encontrados en este trabajo con respecto a la evocación de PGO's, así se tiene que para los sitios que están posteroventrales al puente (a nivel de VI par) hay un estado parecido al MOR con alternancia de movimientos oculares y espigas PGO en tanto que el efecto del CAR inyectado posterodorsal al puente (FTG caudal) provoca estado de vigilia con ausencia total de actividad PGO.

Por otro lado, en el trabajo realizado por Bello y col., (1987) observaron que al hacer transecciones anteriores y muy cercanas al VI par se provocaba una supresión en la actividad PGO, lo que los conduce a pensar que probablemente la región generadora de esta actividad, se encuentra a este nivel.

Considerando los resultados obtenidos en este trabajo, el de Bello y col., así como el de Hobson y col., se puede sugerir que la región que se encuentra en el FTG caudal (para Habson posterodorsal al puente) a un nivel de 10.8 P tiene un papel inhibitorio sobre las PGO ya que la deafferentación anterior de esta región, provoca un incremento significativo del 100% (Bello y col., 1987) en la actividad PGO, en tanto que cuando se excita con ác. kaínico o Carbacol provoca una disminución de PGO's sin llegar a suprimirlas.

Tomando como base lo anterior es perfectamente claro que para poder determinar qué papel juega el FTG dentro del SP o en la actividad PGO, es necesario, considerar con extremo cuidado la porción de este núcleo sobre la que se realiza una manipulación experimental, que sirva como base para el análisis de los resultados; ya que como se muestra en esta tesis, el FTG puede ejercer un papel diferencial según el sitio que se manipule.

ni Drucker-Colin ni este trabajo la han afectado completamente. Para estar ciertamente seguros de que el FTG no es el generador de las PGO y a su vez verificar si es o no sensible a la excitación del ác. kaínico, sería necesario realizar inyecciones rostrales, centrales y caudales así como ventrales y dorsales para tener completamente bien censada esta región.

Por lo tanto, es claro que con los resultados que se tienen hasta ahora no se puede descartar, con toda seguridad, al FTG como la región generadora de las PGO puesto que esta región no fue afectada en su totalidad por el kainato.

- EFECTOS DIFERENCIALES DEL AC. KAINICO A DISTINTOS NIVELES DEL FTG.

Como se mencionó anteriormente en el análisis histológico de esta región, los sitios de inyección del FTG se localizaron en una buena parte del tallo cerebral pontino. Asimismo, se encontró que los efectos del ác. kaínico eran diferenciales dependiendo del sitio en el cual se administrara, observándose que en el FTG caudal se producía una disminución significativa en la actividad PGO del 66.11% y a nivel del VI par un incremento significativo del 55.13%.

Hobson y col., (en prep.) observaron un efecto similar al anterior cuando utilizaron microinyecciones de CAR a distintos niveles del tallo cerebral; entre estas regiones se encuentra una posteroventral al puente y otra posterodorsal al mismo. (Fig. 26C y 26D, resultados) correspondiendo en este trabajo al nivel del VI par y FTG caudal respectivamente, siendo este último punto en este trabajo un poco más ventral que dorsal.

Como se observa en la Fig. 26 los resultados que

En lo que respecta al área X esta región es bastante pequeña comparada con el FTG lo que hace suponer que fue afectada en su mayor parte. Asimismo, de acuerdo a los resultados del análisis histológico sobre los sitios localizados dentro del área X (ver resultados), podemos decir que apesar de que esta región si es sensible al ác. kaínico, la disminución (no significativa) observada es debida a la acción del ác. kaínico sobre sus somas neuronales (Fig. 15); por lo tanto, este trabajo no apoya al área X como región generadora de la actividad PGO, por no haberse observado ningún efecto sobre dicha actividad.

APENDICE

ABEEVIATURAS

Debido a la gran cantidad de abreviaturas utilizadas en esta tesis (tanto en esquemas como en texto), se realizó este apéndice cuya finalidad es hacer más accesible su manejo. Estas abreviaturas se han tratado de ordenar uniformemente, pero algunas de ellas han sido usadas de una manera especial, por lo que éstas son definidas en la figura donde se citen; la ordenación de esta lista es alfabética.

- AK - ác. káinico.
- AX - área X.
- BC - brachium conjuntivum.
- BCM - núcleo marginal del brachium conjuntivum.
- BCX - decusación del brachium conjuntivum.
- BIN - núcleo del brachium del colículo inferior.
- BP - brachium pontis.
- CA - carbacol.
- CAE - núcleo del locus caeruleus.
- CI - núcleo central inferior.
- CNF - núcleo cuneiforme.
- CS - núcleo central superior.
- CVO - órganos circumventriculares.
- Cx - corteza occipital.
- DRM - núcleo dorsal del rafe, división medial.
- EM's- movimientos oculares (del inglés: eye movements).
- FRB - formación reticular bulbar.
- FRM - formación reticular mesencefálica.
- FRMP - formación reticular mesencefálica paramediana.
- FTC - campo tegmental central.
- FTG - campo tegmental giganto-celular.

FTL - campo tegmental lateral.
FTM - campo tegmental magno-celular.
FTP - campo tegmental paralemniscal.
Glu - ácido glutámico.
HRP - peroxidasa.
IC - colículo inferior.
ICC - núcleo externo del colículo inferior.
ICO - comisura del colículo inferior.
ICP - núcleo pericentral del colículo inferior.
ICX - núcleo externo del colículo inferior.
INC - núcleo incertus.
ip - intraperitoneal.
LC - locus caeruleus.
LC_α - locus caeruleus alfa.
MOR - movimientos oculares rápidos.
NGL - núcleo geniculado lateral.
NMC - núcleo magno-celular.
NMOR - sueño de no movimientos oculares rápidos.
NRPC - núcleo reticularis pontis caudalis.
NRPO - núcleo reticularis pontis oralis.
P - tracto piramidal.
PBG - núcleo parabimeginal.
Pb1 - núcleo parabraquial lateral.
PbM - núcleo parabraquial medial.
Peri LC - peri locus caeruleus.
PGD - puente gris (pontine gray), división dorsolateral.
PGL - puente gris (pontine gray), división lateral.
PGM - puente gris (pontine gray), división medial.
PGO - actividad ponto-genículo-occipital.
PGR - puente gris (pontine gray), división rostralateral.
PON - núcleo preolivar.
R - núcleo rojo.
RIB - región inhibidora bulbar.
RR - núcleo retrorubral.

- SC - colículo superior.
 SCI - colículo superior, nivel intermedial.
 SCS - colículo superior, nivel superficial.
 SOL - sueño de ondas lentas.
 SOM - núcleo medial de la oliva superior.
 SP - sueño paradójico.
 SPOL - sueño fásico con ondas lentas.
 T - núcleo del cuerpo trapezoide.
 TB - cuerpo trapezoide.
 TDP - núcleo tegmental dorsal, división pericentral.
 TRC - núcleo reticular tegmental, división central.
 TRP - núcleo reticular tegmental, división pericentral.
 TV - núcleo tegmental central.
 VIN - núcleo vestibular inferior.
 VMN - núcleo vestibular medial.
 VSL - núcleo vestibular división lateral.
 VSM - núcleo vestibular superior, división medial.
 3 - núcleo oculomotor.
 III par - tercer par.
 IV par - cuarto par.
 VI par - sexto par.
 5M - núcleo trigeminal motor.
 5ME - núcleo trigeminal mesencefálico.
 5PD - núcleo trigeminal sensorio principal, división dorsal.
 5SPV - núcleo trigeminal sensorio principal, división ventral.
 5ST - tracto trigeminal mesencefálico.
 6 - núcleo abducens ó VI par.
 6N - nervio abducens.
 7G - rodilla (genu) del nervio facial.
 7L - Nervio facial, división lateral.
 7M - núcleo facial, división medial.
 7N - nervio facial.

10.0. REFERENCIAS

- Aserinsky, E. y Kleitman, N. (1953) Regularly occurring periods of eye motility and concurrent phenomena during sleep. *Science*. 118, 273-274.
- Astic, L. y Jouvét-Mounier, D. (1969) Mise en évidence du sommeil paradoxal in utero chez le cobaye. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*. 2578-2581.
- Aston-Jones, G. y Bloom, F.E. (1981a) Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J. Neurosci.* 1, 876-886.
- Aston-Jones, G. y Bloom, F.E. (1981b) Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. *J. Neurosci.* 1, 887-900.
- Ayala, F. (1980) Fase de sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) en la iguana Ctenosaura similis. *Bol. Estud. Med. Biol., Méx.* 31, 211.
- Bagdoyan, H., Rodrigo-Angulo, M., McCarley, R. y Hobson, J.A. (1984) Site specific Enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. *Brain Research*. 306, 39-52.
- Baxter, B.L. (1968) Elicitation of emotional behavior by electrical or chemical stimulation applied at the same loci

- in cat mesencephalon. *Exp. Neurol.* 21, 1-11.
- Baxter, B.L. (1969) Induction of both emotional behavior and a novel form of REM sleep by chemical stimulation applied to cat mesencephalon. *Exp. Neurol.* 23, 220-230.
- Bello, L., Wences, H., Manjarrez, J. y Alvarado, R. (1987) Efectos sobre la actividad ponto-geniculo-occipital del gato inducidos por transecciones del tallo cerebral. II Reunión Anual-I.N.N.N. Méx. 1.
- Berger, H. (1930) Uber da electroencephalogramm des menchen. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* 87, 527-570.
- Berlucchi, G., Moruzzi, G., Salvo, G. y Strata, P. (1964) Pupil behavior and ocular movements during synchronized and desynchronized sleep. *Arch. Ital. Biol.* 102, 230-245.
- Berman, A.L. (1968) The Brain Stem of the cat. A Cytoarchitectonic atlas with coordinate. The University of Wisconsin Press. Madison, Milwaukee, and London, p 156.
- Bertrand, F. y Hugelin, A. (1971) Respiratory synchronizing function of nucleus parabrachialis medialis: Pneumotaxic mechanisms. *J. Neurophysiol.* 34, 189-207.
- Bertrand, F., Hugelin, A. y Vibert, J.F. (1973) Quantitative study of the anatomical distribution of respiratory related neurons in the pons. *Expl. Brain Res.* 16, 383-399.
- Bizzi, E. y Brooks, D.C. (1963) Functional connections between pontine reticular formation and lateral geniculate nucleus during deep sleep. *Arch. Ital. Biol.* 101, 666-680.

- Bowe-Anders, C., Adrien, J. y Roffwarg, H.P. (1974) Ontogenesis of pontogeniculo-occipital activity in the lateral geniculate nucleus of the kitten. *Exp. Neurol.* 43, 242-260.
- Bowker, R.M. (1979) The biological significance of eye movements potentials of wakefulness and the PGO spikes of sleep. Unpublished Ph. D. thesis, University of Pennsylvania.
- Bowker, R.M. y Morrison, A.R. (1976a) The startle reflex and PGO spikes. *Brain Res.* 102, 185-190.
- Brooks, D.C. (1967) Effect of bilateral optic nerve section on visual system monophasic wave activity in the cat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 23, 134-141.
- Brooks, D.C. y Bizzi, E. (1963) Brain Stem electrical activity during deep sleep. *Arch. Ital. Biol.* 101, 648-665.
- Brooks, D.C. y Gershon, M.D. (1971) Eye movements potentials in the oculomotor and visual systems of the cat: a comparison of reserpine induced waves with those present during wakefulness and rapid eye movement sleep. *Brain Res.* 27, 233-239.
- Buguet, A. (1969) Monoamines et sommeil. V. Etude des relations entre les structures monoaminergiques du pont et les pointes ponto-geniculo-occipitales du sommeil. Thèse Medicine. Ed. Lyon, Tixier. p. 214.
- Buguet, A., Petitjean, F. y Jouvet, M. (1970) Suppression des pointes PGO du sommeil par lesion ou injection in situ de 6-hydroxydopamine au niveau du tegmentum pontique. *C.R. Soc. Biol. (Paris).* 164, 2292-2298.

- Calvo, J.M., Fernández-Guardiola, A. y Condes-Lara, M. (1979) Propagation of REM. Phasia electrical activity and girus cinguli. Sleep Research. Eds. M.A. Chase, D.F. Kripke and P.L. Walter. BIS/BRI, University of California, Los Angeles. 8, 20 p.
- Calvo, J.M., Contreras, C.M. y Fernández-Guardiola, A. (1973) Fluctuaciones de la frecuencia cardiaca durante la fase REM. XVI Congreso de Ciencias Fisiológicas. Bol. Estud. Méd. Biol. Méx., (Resumen). 28, 93.
- Camacho-Evangelista y Reynoso-Suárez, F. (1964) Activating and sincronizing centers in cat brain; electroencephalograms after lesions. Science. 146, 268-270.
- Carli, G. y Zanchetti, A. (1965) A study of pontine lesions suppressing deep sleep in the cat. Arch. Ital. Biol. 103, 751-789.
- Cespuglio, R., Laurent, J.P. y Jouvet, M. (1975) Etude des relations entre l'activité ponto-geniculo-occipital (PGO) et la motricité oculaire chez le chat sous réserpine. Brain Res. 83, 319-335.
- Cespuglio, R., Laurent, J.P. y Calvo, J.M. (1976) Organisation anatomique des activiées phasiques provoquées par la resepine au niveau du systeme oculo-moteur. Electroencheph. clin. Neurophysiol. 40, 12-24.
- Cespuglio, R., Calvo, J.M., Musolino, R. y Valatx, J. (1977) Activité phasique chez le rat. Physiol. Behav. 19, 589-596.
- Cohen, M. I. (1971) Switching of the respiratory phases and

- evoked phrenic responses by rostral pontine electrical stimulation. *J. Physiol.* 217, 133-158.
- Colonnier, M., Steriade, M. y Landry, P. (1979) Selective resistance of sensory cells of mesencephalic trigeminal nucleus to kainic acid-induced lesions. *Brain Res.* 172, 552-556.
- Curthoys, I.S., Nakao, S. y Markham, C.H. (1981) Cat medial pontine reticular neurons related to vestibular nystagmus: Firing pattern, location and projection. *Brain Res.* 222, 75-94.
- Costin, A. y Hafemann, D.R. (1970) Relationship between oculomotor nucleus and lateral geniculate body monophasic waves. *Experientia (Basel)*. 26, 972-973.
- Coyle, J.T., Schwarcz, R. (1976) Lesion of striatal neurons with kainic acid provides a model for Huntington's Chorea. *Nature*. 263, 244-246.
- Coyle, J.T., McGeer, E.G., McGeer, E.G., y Schwarcz, R. (1978) Neostriatal Injections: A Model for Huntington's Chorea. In: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. pp. 139. 159. Eds. McGeer, E., et. al. Raven Press, New York.
- Cox, D.W.G., y Bradford, H.F. (1978) Uptake and Release of Excitatory Amino Acid Neurotransmitters. In: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. pp 71-93. Eds. McGeer, E., et. al. Raven Press, New York.
- Delorme, F., Froment, J.L. y Jouvet, M. (1966) Suppression du sommeil par la p-chlorométhamphétamine et p-chlorephény-

Ialanine. C.R. Soc. Biol. (paris). 160, 2347.

Dement, W.C. (1958) The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioural sleep in the cat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 10, 291-296.

Dement, W.C. (1964) Experimental dream studies. In: *Science and Psychoanalysis*. Ed. Masserman. Grune y Stratton New York.

Dement, W., y Kleitman, N. (1957a) Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movement body motility and dreaming. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 9, 673-990.

Dement, W.C. y Kleitman, N. (1957b) The relation of eye movements during sleep to dream activity: an objective method for the study of dreaming. *J. Expl. Psychol.* 53, 339-346.

Dement, W., Ferguson, J., Cohen, H. y Barchas, J. (1970a) Non chemical methods and data using a biochemical model: the REM quanta. In: *Some current issues in psychochemical research strategies in man*. pp. 275-325. Ed. Mandell, A. Academic Press, New york.

Dement, W., Zarcone, V., Ferguson, J., Cohen, H. Pivik, T. y Barchas, J. (1970b) Some parallel findings in schizophrenic patients and serotonin depleted cat. In: *Schizophrenia Current concepts and research*. pp. 775-811. Ed. Silva-Sankar, P.J.D. Hicksuille, New York.

De Montigny, C. y Lund, J.P. (1980) Microiontophoretic study of the action of kainic acid and putative transmitters in the rat mesencephalic trigeminal nucleus. *Neuroscience.* 5,

1621-1628.

- Díaz, P.G., Mora, A., Manjarrez, J., Hernández, J. y Alvarado, R. (1986) Efecto del Carbacol en el AX: Acción sobre la actividad ponto-geniculo-occipital del gato. XXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. 174 p.
- Di Chiara, G., Olianas, M., Del Fiacco, M., Spano, P.F., y Tagliamonte, A. (1977) Intramigral kainic acid is evidence that nigral non-dopaminergic neurons control posture. *Nature*. 268, 743-745.
- Dreyfus-Brisac, C. (1964) Etude ontogénétique du sommeil chez le prématuré humain. *Acta Paediat. Lat.* 17, 697-709.
- Drucker-Colín, R.R. (1973) Crossed perfusion of a sleep inducing brain tissue substance in conscious cats. *Brain Res.* 56, 123-134.
- Drucker-Colín, R.R. (1974) The possible nature of sleep inducing brain perfusates: Their relationship to seizure inhibition. En: *Neurohumoral Coding of Behavior*. pp. 233-256. Eds. Meyers y Drucker-Colín. *Advances in Behavior Biology*, Plenum Press, New York, New Vol. 10.
- Drucker-Colín, R.R., Bernal, J.G. (1983) Kainic acid lesions of gigantocellular tegmental field (FTG) neurons does not abolish REM sleep. *Brain Res.* 272, 387-391.
- Drucker-Colín, R.R., Rojas-Ramírez, J.A., Vera-Trueba, J., Monroy Ayala, G. y Hernández Peón, R. (1970) Effects of crossed perfusion of the midbrain reticular formation upon sleep. *Brain Res.* 23, 269-273.

- Drucker-Colin, R.R., Bowersox, S.S. y McGinty, D.J. (1982) Sleep and medial reticular unit responses to protein synthesis inhibitors: effects chloramphenicol and thiamphenicol. *Brain Res.* 252, 117-128.
- Dusan-Peyrethon, D. (1967) Etude quantitative des phenomenes phasiques du sommeil paradoxal pendant et apres deprivation instrumentale. *C.R. Soc. Biol. (paris)*. 161, 2530-2533.
- Ephron, H. y Carrington, P. (1965) REM sleep and cortical homeostasis: Theoretical considerations. Report to The Association for the Psychophysiological Study of Sleep. (Washington, D.C.).
- Evans, R.H., Francis, A.A. y Walkins, J.C. (1977) *Experientia*. 33, 246-248.
- Faber, J., Marks, G.A. y Roffwarg, A.P. (1980) Rapid eye movement sleep PGO-type waves are present in the dorsal pons of the albino rat. *Science*. 209, 615-617.
- Fibiger, H. (1978) Kainic Acid Lesions of striatum: A Pharmacological and Behavioral Model of Huntington's Disease. En: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. pp. 161-177. Eds. McGeer, E., et. al. Raven Press, New York.
- Fischer, C. (1965a) Psychoanalytic implications of recent research on sleep and dreaming. *J. Amer. Psychoanal. Ass.* 13, 197-303.
- Fischer, C., Gross, J. y Zuch, J. (1965b) Cycle of penile erection synchronous with dreaming (REM) sleep. *Arch. Gen. Psychiat.* (Chicago). 12, 29-45.

- Footé, S.L., Aston-Jones, G. y Bloom, F.E. (1980) Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A. 77, 3033-3037.
- Fourré, A.M., Rodríguez, f. y Vicent, J.D. (1974). C.R. Soc. Biol. Paris. 168, 959-964.
- Fung, S.L., Boxer, P.A., Morales, F.R. y Chase, M.H. (1982) Hyperpolarizing membrane responses induced in lumbar motoneurons by stimulation of the nucleus reticularis pontis oralis during active sleep. Brain Res. 258, 267-273.
- Gassel, M.M., Marchiafava, P.L. y Pompeiano, O. (1964a) Phasic changes in muscular activity during desynchronized sleep in unrestrained cat. An analysis of the pattern and organization of myoclonic twitches. Archs ital. Biol. 102, 449-470.
- Gassel, M.M. Marchiafava, P.L. y Pompeiano, O. (1965) Activity of the red nucleus during deep desynchronized sleep in the unrestrained cat. Archs ital. Biol. 103, 369-396.
- George, R., Hoslett, W.L. y Jenden, D.J. (1964) A cholinergic mechanism in the system reticular formation: induction of paradoxical sleep. Int. J. Pharmacol., 3, 451-452.
- Greenberg, R. y Leiderman, P. (1964) The relationship of dream imagery to daily perceptions and the implications for a possible theory of the physiologic function of dreaming. Reporte a la "Association for the Psychophysiological study of sleep". Palo Alto, U.S.A.

- Gottesmann, C. (1969) Etude sur les activites electrophysiologiques phasiques chez le rat. *Physiol. Behav.* 4, 295-304.
- Hartmann, E.M.D. (1967) The biology of dreaming. Ed. by Charles C. Thomas. Publisher. 206 p.
- Hawkins, D., Puryear, H., Wallace, C., Deal, E. y Thomas, E. (1962) Basal skin resistance during sleep and "dreaming" *Science.* 136, 321-322.
- Hendricks, J.C., Morrison, A.R. and Mann, G.L. (1982) Different behaviors during paradoxical sleep without atonia depend upon pontine lesion site. *Brain Res.* 239, 81-105.
- Henley, K. y Morrison, A.R. (1974) A revaluation of effects of lesions of pontine tegmentum and locus coeruleus on phenomenon of paradoxical sleep in the cat. *Acta Neurobiol., Expl* 34, 215-232.
- Henn, V. y Cohen, B. (1976) Coding of information about rapid eye movements in the pontine reticular formation of alert monkeys. *Brain Res.* 108, 307-325.
- Herndon, R.M. y Coyle, J.T. (1978) Glutamatergic Innervation, Kainic Acid, and Selective Vulnerability in the cerebellum. In: *Kainic Acid, as a Tool in Neurobiology.* pp. 189-200. Eds. McGee, E., et. al Raven Press, New York.
- Hess, W.R. (1929) Lokalizatorische ergebnisse der hinereizuer-suche mit schlafeffekt. *Psychiatr. Nervenkr.* 88, 813.
- Hess, W.R. (1944) Hypothalamische adynamie. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta.* 2, 137-147.

- Hikosaka, O y Kawakami, T. (1977) Inhibitory reticular neurons related to the quick phase of vestibular nystagmus-their location and projection. *Expl Brain Res.* 27, 377-396.
- Hikosaka, O., Igusa, Y., Nakao, S. y Shimazu, H. (1978) direct inhibitory synaptic linkage of pontomedullary reticular burst neurons with abducens motoneurons in the cat. *Expl Brain Res.* 33, 337-352.
- Hobson, J.A. (1964) L'activité électrique phasique du cortex et du thalamus au cours du sommeil desynchronisé chez le chat. *Soc. Biol. Lyon.* 1, 2131-2135.
- Hodson, J.A. (1965) The effects of chronic brain stem lesions on cortical and muscular activity during sleep and waking in the cat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 19, 41-62.
- Hobson, J.A., Alexander, J., y Frederickson, C.J. (1969) The effect of lateral geniculate lesions on phasic electrical activity of the cortex during desynchronized sleep in the cat. *Brain Res.* 14, 607-621.
- Hobson, J.A., McCarley, R.W., Pivik, R.T. y Freeman, R. (1974a) Selective firing by cat pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. *J. Neurophysiol.* 37, 497-511.
- Hobson, J.A. (1974b) The cellular basis of sleep cycle control. In; *Advances in Sleep Research.* pp. 217-250. Ed. E. Weitzman Spectrum, New York.
- Hobson, J.A., McCarley, R.W. y Wyzinski, P.W. (1975) Sleep cycle oscillation: Reciprocal discharge by two brainstem neuronal group. *Science.* 189, 55-58.

- Hobson, J.A. Lydic, R. y Baghdoyan, H.A.: Evolving concepts of sleep cycle generation; From brain centers to neuronal populations, *The Behavioral and Brain Sciences*, 1-9, in press.
- Huntley, A.C., Friedmann, J.K., Cohen, H.B. (1977) Sleep in an iguanid lizard, Diososaurus dorsalis. *Sleep Res.* 6, 104.
- Igusa, Y., Sakai, S., y Shimazu, H. (1980) Excitatory premotor burst neurons in the cat pontine reticular formation related to the quick phase of vestibular nystagmus. *Brain Res.* 182, 451-456.
- Infante, G.S. y Zarate de Lara, G.P. (1984) *Métodos Estadísticos*. Trillas. pp 643.
- Jeannerod, M. (1965) *Organization de l'activité électrique phasique du sommeil paradoxal. Etude électrophysiologique et neuropharmacologique*. Thèse de médecine, Lyon.
- Jeannerod, M. y Mouret, J. (1963) *Etude comparative des mouvements oculaires observés chez le chat au cours de la veille et du sommeil*. *J. Physiol. (Paris)*. 55, 268.
- Jeannerod, M., Mouret, J. y Jouvet, M. (1965a) *Effets secondaires de la deafferentation visuelle sur l'activité phasique ponto-geniculo-occipitale du sommeil paradoxal*. *J. Physiol. (Paris)*. 57, 255-256.
- Jeannerod, M., Mouret, J. y Jouvet, M. (1965b) *Etude de la motricité oculaire au cours de la phase paradoxal de sommeil chez le chat*. *EEG cli. Neurophysiol.* 18, 554-566.

- Jeannerod, M., y Putkonen, P.T.S. (1970) Oculomotor influences on lateral geniculated body neurons. *Brain Res.* 24, 125-129.
- Johnston, G.A.R., Curtis, D.R., Davies, J., y McCulloch, R.M. (1974) Excitation of spinal interneurons by some conformationally restricted analogues of L-glutamic acid. *Nature.* 248, 804-805.
- Jones, B. (1970) The double role of catecholamines in waking and paradoxical sleep. A neuropharmacological model. Ph. D. Thesis. University of Delaware.
- Jones, B. (1971) Hallucinating like behavior elicited in cats by elevation of catecholamines in the central nervous system. *Psychophysiology.* 7, 314.
- Jouvet, M. (1962) Recherche sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. *Arch. Ital. Biol.* 100, 125-206.
- Jouvet, M. (1965b) Behavioral and EEG effect of paradoxical sleep deprivation in the cat. En: *Proceeding of the 23rd International Congress of Physiological Sciences, Tokyo, Vol. 4. Excerpta Médica Internat. Congress series.* 87, 344-355.
- Jouvet, M. (1965c) Paradoxical sleep-A study of its nature and mechanisms. En: *Sleep mechanisms.* pp. 20-62. Eds. K. Aker, C. bally, J. Schadé. *Progress in brain research.* Vol. 18. Amsterdam.
- Jouvet, M. (1967) Neurophysiology of the states of sleep. *Physiol. Rev.* 47, 117-177.

- Jouvet, M. (1969) Biogenic amines and the states of sleep. *Science*. 193, 32-41.
- Jouvet, M. (1972) The role of Monoamines and Acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. In: *Neurophysiology and Neurochemistry of sleep and wakefulness*. pp. 167-307. *Review of Physiology*. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. New York.
- Jouvet, M. y Delorme, J.F. (1965) Locus coeruleus et sommeil paradoxal. *C.R. Soc. Biol.* 159, 895-899.
- Jouvet, M., Michael, F. y Courjon, J. (1959) Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. *Comt. Rend. Soc. Biol.* 153, 1024-1028.
- Jouvet, M., Michel, F. y Mounier, D. (1960) Analyse électroencéphalographique comparée du sommeil physiologique chez le chat et chez l'homme. *Rev. Neurol. (Paris)*. 103, 189-204.
- Jouvet, M., Jeannerod, M. y Delorme, F. (1965) Organization du système responsable de l'activité phasique au cours du sommeil paradoxal. *C.R. Soc. Biol.* 159, 1599-1604.
- Jouvet-Mounier, D., Astic, L. y Lacote, D. (1970) Ontogenesis of the states of sleep in rat, cat and guinea pig during the first post-natal month. *Develop. Psychobiol*, 2, 216-239.
- Kaneko, C.R.S., Evinger, C. y Fuchs, A.F. (1981) Role of cat pontine burst neurons in generation of saccadic eye movements. *J. Neurophysiol.* 46, 387-408.

- Kamiya, J. (1961) Behavioral, subjective and arousability. In: functions of Varied Experience. pp. 145-174. Eds. Fiske, D. and Maddi, S. Homewood, Dorsey.
- Karacan, I., Michael, A. y Williams, R.L. (1976) Recent advances in the psychophysiology of sleep and their psychiatric significances. In: Biological foundation of psychiatry. pp. 449-498. Eds. Grenell & Gabay. Raven Press, New York. 1.
- Karmanova, I.B., Belich, A. I., Voronov, I. B., Schilling, N.V. (1978) Interaction of cholinergic and adrenergic systems during development of two forms of sleep in the frog Rana temporaria and the turtle Emys orbicularis. J. Evol. Biochem. Physiol. 3, 506-510.
- Kaufman, L.S. y Morrison, A.R. (1981) Spontaneous and elicited PGO spikes in rat. Brain Res. 214, 61-72.
- Keller, E.L. (1974) Participation of medial pontine reticular formation in eye movement in monkey. J. Neurophysiol. 37, 316-332.
- Kitsikis, A., y Steriade, M. (1981) Immediate behavioral effects of Kainic Acid injections into the Midbrain Reticular Core. Behavioral Brain Res. 3, 361-380.
- Kiyono, S. et Jeannerod, M. (1967) Relations entre l'activité geniculée phasique et les mouvements oculaires chez le chat normal et sous réserpine. C.R. Soc. Biol. (Paris). 161, 1607-1611.
- Klein, M. (1963) Etude polygraphique et phylogénique de états de sommeil. Thèse Université de Lyon, Bosc. Ed. pp. 101.

- Klein, M. (1963) etude polygraphique et phylogénique de états de sommeil. Thèse Université de Lyon, Bosc. Ed. pp. 101.
- Kleitman, N. (1929) Sleep. *Physiol. Rev.* 9, 624-665.
- Kleitman, N. (1957) Sleep. Wakefulness and conscioues. *Psychol Bull.* 54, 354-359.
- Knox, C.K. y King, G. W. (1976) Changes in the Brever-Hering reflexes following rostral pontine lesion. *Respir. Physiol.* 28, 189-206.
- Koella, W.P., Feldstein, a. y Czicman, J.S. (1968) The effect of parachlorophenilalanine of the sleep on cats. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 25, 481-490.
- Lakshmanan, J., y Padmanaban, G. (1974) Effect of some "strong" excitants of central neurons on the uptake of L-glutamate and L-aspartate by synaptosomes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 58, 690-698.
- Laurent, J.P., Cespuglio, R. y Jouvet, M. (1972) Delimitation des voies ascendantes responsables de l'activité Ponto-Geniculo-Occipitale chez le chat. *Experientia*, p. 28.
- Laurent, J.P., Cespuglio, R. y Jouvet, M. (1974) Delimitation desvoies ascendantes de l'activité ponto-geniculo-occipitale chez le chat. *Brain Res.* 65, 29-52.
- Laurent, J.P., Rondovin, G., Benita, M. y Jouvet, M. (1977) Reversible blockade of PGO waves and concomitent modifications of thalamic unit activity in chronic cats. *Brain Res.* 137, 305-322.

- Laurent, J. y Ayala, G.F. (1975) Reversible suppression of ponto-geniculo-occipital waves by localized cooling during paradoxical sleep in cats. *Expl Neurol.* 49, 356-369.
- London, E.D. y Coyle, J.T. (1979). *Molec. Pharmac.* 15, 492-505.
- Loomis, A., Harvey, E. y Hobart, G. (1937) Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. *J. Exp. Psychol.* 201, 127-144.
- Lucas, E.A. (1978) *Sleep Res.* 7, 142.
- Luschei, E.S. y Fuchs, A.F. (1972) Activity of brain stem neurons during eye movements of alert monkeys. *J. Neurophysiol.* 35, 445-461.
- Maeda, T., Pin, C., Salvat, d., Ligier, M. y Jouvet, M. (1973) Les neurones contenant des catecholamines du tegmentum pontique et leurs voies de projection chez le chat. *Brain Res.* 57, 119-152.
- Macadar, A.W., Chalupa, L.M. y Lindsley, D.B. (1974) Differentiation of brain stem loci which affect hippocampal and neocortical electrical activity. *Expl Neurol.* 43, 499-514.
- Magoun, H.W. (1963) *The waking brain.* 2nd Springfield: Ch. C. Thomas VIII. p. 188.
- Manjarrez, M.J., García, R.M., Alvarado, C.R. (1985) Efecto de la lesión del núcleo parabraquial lateral y del AX sobre la actividad PGO. XXVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Universidad Autónoma de Puebla. 267.

- Marchiafava, P.L. y Pompeiano, O. (1964) Pyramidal influences on spinal cord during desynchronized sleep. *Archs. ital. Biol.* 102, 500-529.
- Marks, G.A. Farber, J. y Roffwarg, H.P. (1980b) Metencephalic localization of ponto-geniculo-occipital waves in the albino rat. *Expl Neurol.* 69, 667-677.
- Matsumoto, J. y Jouvet, M. (1964) Effect de reserpine, DOPA et 5-HTP sur les deux etats de sommeil. *C.R. Soc. Biol.* 158, 2135-2139.
- McCarley, R.W. y Hobson, J.A. (1970) Cortical unit activity in desynchronized sleep. *Science.* 167, 901-904.
- McCarley, R.W. Nelson, J.R. y Hobson, J.A. (1978) Ponto-geniculo-occipital (PGO) burst neurons: correlative evidence for neuronal generators of PGO waves. *Science.* 160, 1253-1255.
- Mc Culloch, R.M., Johnston, G.A.R., Game, C.J.A., y Curtis, D.R. (1974) The differential sensitivity of spinal interneurons and Renshaw cells to kainate and N-methyl-D-aspartate. *Exp. Brain Res.* 21, 515-518.
- McGeer, E.G., McGeer, P.L. (1976) Duplication of biochemical Changes of Huntington's Chorea by intrastriatal injection of glutamic and kainic acid. *Nature.* 263, 517-519.
- McGeer, P., McGeer, E., y Hattori, T. (1978) Kainic Acid as a Tool in Neurobiology. En: *Kainic Acid a Tool in Neurobiology.* pp. 123-139. Eds. McGeer, E., et. al Raven Press, New York.

- McGinty, D.J. y Drucker-Colín, R.R. (1982) Sleep mechanisms: biology and control of REM sleep. *Int. J. Neurobiol.* 23, 391-436.
- McGinty, D.J. y Sterman, M.B. (1968) Sleep supression after basal forebrain lesions in the cat. *Science.* 160, 1253-1255.
- Melesio, N.S. y Ayala, G.F. (1983) Filogenia del Sueño: Peces y Anfibios. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 32, 101-107.
- Michel, R., Jeannerod, M., Mouret, J., Rechtschaffen, A. y Jouvet, M. (1964) Sur les mechenismes de l'activité de pointes au niveau du systeme visuel au cours de la phase paradoxal du sommeil. *C.R. Soc. Biol.* 158, 103-106.
- Mikiten, T., Niebyl, P. y Hendley, C. (1961) EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharge from the thalamus of the cat. *Fed. Proc.* 20, 327.
- Mizukawa, K., Shimizu, K., Matsuura, T., Ibata, Y. y Sano, Y. (1976) The influence of kainic acid on the tuberoinfundibular dopaminergic tract of the rat: Fluorescence histochemistry and electron microscopic investigation. *Acta Histochem. Cytochem.* 9, 315-322.
- Moruzzi, G. (1964) Reticular influences on the EEG. *EEG clin. Neurophysiol.* 16, 2-17.
- Moruzzi, G. (1972) The sleep-waking cycle. En: *Reviecos of physiology.* Eds. Adrian y Col. Springer-Verlag, Berlín.

- Moruzzi, G. y Magoun, H. (1949) Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroenceph clin. Neurophysiol* 1, 455-473.
- Mouret, J.R., Jeannerod, M. y Jouvet, M. (1963) L'activité électrique du système visuel au cours de la phase paradoxale du sommeil chez le chat. *J. Physiol. (Paris)*. 55, 305-306.
- Mouret, J.R., Villppula, A., Fraschon, N y Jouvet, M. (1968) Effects d'un inhibiteur de la monoaminie-oxidase sur le sommeil du rat. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*. 162, 914-917.
- Mraovitch, S., Kaumada, M. y Reis, D.J. (1982) Role of the nucleus parabrachialis in cardiovascular regulation in cat. *Brain Res.* 232, 57-75.
- Nadler, J.V., Perry, W.B., y Cotman, W.C. (1978) Preferential Vulnerability of Hippocampus to intraventricular Kainic Acid. En: *Kainic Acid a Tool in Neurobiology*. pp. 219-239. Eds. McGeer, E. et. al. Raven Press, New York.
- Nauta, W.J.H. (1946) Hypothalamic regulation of sleep in rats. *Experimental Study. J. Neurophysiol.* 9, 283-316.
- Nelson, J.P., McCarley, R.W. y Hobson, J.A. (1983) REM sleep burts neurons, PGO waves, and eye movement information. *J. Neurophysiol.* 50, 784-797.
- Newman, E.A. y Evans, C.R. (1965) Human dream processes as analogous to computer programme clearance. *Nature. (Lond)*. 206, 534.

- Olney, J.W. (1969) Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science*. 164, 719-721.
- Olney, J. (1978) Neurotoxicity of Excitatory Amino Acids. En: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. pp. 95-123. Eds. McGeer, E. et. al. Raven Press, New York.
- Olney, J.W., Ho, O.L., Rhee, V. (1971) Cytotoxic effects of acidic and sulphur-containing aminoacids on the infant mouse central nervous system. *Exp. Brain Res.* 14, 6176.
- Olney, J.W., Rhee, V. y Ho, O.L. (1974) Kainic Acid: A powerful neurotoxic analogue of glutamate. *Brain Res.* 77, 507-512.
- Olney, J.W. Rhee, V. de Gubareff, T. (1977) Neurotoxic effects of glutamate on mouse area postrema. *Brain Res.* 120, 151-157.
- Olney, J. y Gubareff, T. (1978) Extreme Sensitivity of Olfactory Cortical Neurons to Kainic Acid Toxicity. En: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. pp. 201-219. Eds. McGeer, E. et. al. Raven Press, New York.
- Olney, J.W., y Price, M.T. (1978) Excitotoxic Amino as Neuroendocrine Probes. En: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. pp. 239-263. Eds. McGeer, E. et. al. Raven Press, New York.
- Olney, J., Fuller, T. y Gubareff, T. (1981) Kainate-like neurotoxicity of folates. *Nature*. 292, 165-167.

- Pappenheimer, J.R., Miller, J.B. y Goodrich, C.A. (1967) Sleep promoting effect of cerebrospinal fluid from sleep deprived goats. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.). 58, 513-517.
- Pappenheimer, J.R., Fenel, V., Karnovsky, M.L. y Koski, G. (1974) Peptides in cerebrospinal fluid and their relation to sleep and activity. Res. Pub. Nerv. Ment. Dis. 53, 201-208.
- Pappenheimer, J.R., Koski, G., Fenel, V., Karnovsky, M.L. y Kruger, J. (1975) Extraction of sleep-promoting factor S from cerebrospinal fluid and from sleep deprived animals. J. Neurophysiol. 38, 1299-1311.
- Pellet, J., Tardy, M., Dubrocard, S y Harley, F. (1974) Etude de l'activite electrique phasique du cortex du cervelet au cours des etats de veille et de sommeil. Arch. Ital. Biol. 112, 163-195.
- Perachio, A.A., Genuculate spike activity in primate sleep and wakefulness. Abstract Sleep Res. 2, 42. (1973).
- Perenin, M.T. y Jeannerod, M. (1971) Lesions internucléaires effects sur la motricité oculaire pendant l'éveil et le sommeil paradoxale chez le chat. Brain Res. 32, 299-310.
- Pujol, J.F., Buguet, A., Froment, J.L., Jones, B. y Jouvét, M. (1971) The central metabolims of serotonin in the cat during insomnia: a neurophysiological and biochemical study of the administration of p-chlorophenylalanine or destruction of the raphe system. Brain Res. 29, 195-212.
- Purpura, D.P., Frigyesi, T.L., McMurtry, J.G. y Scarff, T. (1966) Synaptic mechanisms in thalamic regulation of cere-

bello-cortical projection activity. In: The thalamus. pp. 153-172. Eds. Purpura, D.P. and Yahr, M.D. New York and London: Columbia University Press. 438 pp.

Rechtschaffen, A., Kales, A., Berguer, R.J., Dement, W.C., Jacobson, L.C., Jouvett, M., Monroe, L.J., Oswald, I., Roffwarg, H.P., Roth, B. y Walter, R.D. (1968) A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Public Health Service, U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.N.I.H. Publication. 204, p. p. 58.

Roffwarg, H., Musio, H. y Dement, W. (1966) Ontogenic development of the human sleep-dream cycle. Science. 152, 604-618.

Roffwarg, H.P., Adrian, J., Marws, G. y Farber, J. (1979) Central and peripheral REM sleep activity in the auditory system of the cat. En: Sleep Research. 8, 35. Eds. M.H. Chase, D.F. Kripkeand, P.J. Walter. U.C.L.A., Los Angeles.

Renault, J. (1967) Monoamines et Sommeil. Role du système du raphé et de la sérotonine cérébrale dans l'endormissement. Tixier et Fils. Lyon, 142 pp.

Rossi, G.F., Palestini, M., Pisano, M.E. y Rosadini, G. (1963) An experimental study of the cortical reactivity during sleep and wakefulness. Colloquies Internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique. 127, 509-532.

Ruck, A., Kramer, S., Metz, J. y Brennan, M.J.W. (1980) Methyltetrahydrofolate is a potent and selective agonist for kainic acid receptors. Nature. 287, 852-853.

- Roussel, B., Buguet, A., Bobillier, P. y Jouvet, M. (1967) Locus coeruleus-sommeil paradoxal et noradrenaline cerebrale. C.R. Soc. Biol. 161, 2537-2541.
- Salzarulo, P., Lairy, G.C., Bancaud, J. y Munari, C. (1975) Direct depth recordings of the striate cortex during REM sleep in Man: are there PGO potentials. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 38, 199-202.
- Saito, H., Sakai, K. y Jouvet, M. (1977) Discharge patterns of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. Brain Res. 134, 59-72.
- Sakai, K. (1980) Some anatomical and physiological properties of ponto-mesencephalic tegmental neurons with special reference to the PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. In: The Reticular Formation Revisited. pp. 427-447. Eds. J.A. Hobson and M.A.B. Raven Press, New York.
- Sakai, K. (1985) Anatomical and Physiological Basis of Paradoxical Sleep. In: Brain Mechanisms of Sleep. pp. 111-137. Ed. D.J. McGinty et. al. Raven Press, New York.
- Sakai, K., Peitjean, F. y Jouvet, M. (1976) Effects of ponto-mesencephalic lesions and electrical stimulation upon PGO waves and EMP's in unanesthetized cats. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 41, 49-63.
- Sakai, K., Kanamori, N. y Jouvet, M. (1979) Neuronal activity specific to paradoxical sleep in the bulbar reticular formation of unrestrained cats. C.R. Acad. Sci. (D) (Paris) 289, 557-561.

- Sakai, K. y Jouvét, M. (1980) Brainstem PGO-on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. Brain Res. 194, 500-505.
- Sastre, J.P., Sakai, K. y Jouvét, M. (1978) Bilateral lesions of the dorsolateral pontine tegmentum. II. Effect upon muscle atonia. Sleep Res. 7, 44.
- Sastre, J.P., Sakai, K. y Jouvét, M. (1981) Are the gigantocellular tegmental field neurons responsible for paradoxical sleep?. Brain Res. 229, 147-161.
- Schwarcz, R., Scholz, D., Coyle, J.T. (1978) Structure activity relations for the neurotoxicity of kainic acid derivatives and glutamate analogues. Neuropharmacol. 17, 14-57.
- Shapiro, A., Goodenough, D., Biederman, I. y Sleser, I. (1964) Dream recall and the physiology of sleep. J. Appl. Physiol. 19, 778-783.
- Shinozaki, H. (1978) Discovery of Novel Actions of Kainic Acid and Related Compounds, En: Kainic Acid as a Tool in Neurobiology. pp. 17-37. Eds. McGeer, E. et. al. Raven Press, New York.
- Shinozaki, H. y Konishi, S. (1970) Actions of several anthelmintics and insecticides on rat cortical neurones. Brain Res. 24, 368-371.
- Shinozaki, H. y Shibuya, I. (1974) Neuropharmacology. 13, 1057-1065.
- Siegel, J.M., McGinty, D.J. y Breedlove, S.M. (1977) Sleep and waking activity of pontine gigantocellular field neurons.

Exp1 Neurol. 56, 553-573.

Siegel, J.M., Tomaszewski, K.S. Wheeler, R.L. (1983) Behavioral organization of reticular formation in the unrestrained cat. II. Cells related to facial movements. J. Neurophysiol 50, 717-723.

Simson, E.L., Gold, R.M., Standish, L.J. y Pellet, P.C. (1977) Axon-sparing brain lesioning technique: The use of monosodium L-glutamate and other aminoacids. Science. 198, 515-517.

Snyder, F. (1965) the organismic state associated with dreaming En: Psychoanalysis and Current Biological Thought. pp. 275-315. Eds. Greenfizld, N. and Lewis, W. Madison, University Wisconsin Press.

Snyder, F. (1966) Toward and evolutionary theory of dreaming. Presentación a la Asociación Psiquiátrica Americana. Atlantic city.

Snyder, R. y Neimer, W.T. (1961) Steriotaxic atlas of the cat brain. The University of Chicago, Press.

Snyder, F., Hobson, J., Morrison, B. y Goldfrank, F. (1964) Changes in respiration, heart rate and systolic blood pressure in relation to electroencephalographic patterns of human sleep. J. Appl. Physiol. 19, 417-422.

Spector, R. y Lorenzo, A.V. (1975) Folate Transport by the Choroid Plexus in vitro. Science. 187, 540-542.

Sparks, D.L. y Travis, R.P. (1971) Firing patterns of reticular formation neurons during horizontal eye movements. Brain

Res. 33, 477-481.

- Steriade, M., Oakson, G. y Robert, N. (1982) Firing rates and patterns of midbrain reticular neurons during stedy and transitional states of sleep-waking cycle. *Expl Brain Res.* 46, 37-51.
- Sterman, M., Knauss, T., Lehmann, D. y Clemente, C. (1965) Circadian sleep and waking patterns in the laboratory cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 19, 509-517.
- St. John, W. M., Glasser, R.L. y King, R.A. (1971) Apneustic breathing in cats with chronic pneumotaxic center lesions. *Respir. Physiol.* 12, 239-250.
- Takemoto, T. (1978) isolation and Structural Identification of Naturally Occurring Excitatory Amino Acids. En: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology.* pp. 1-17. Eds. McGeer, E., et. al. Raven Press, New York.
- Tanaka, T., Langue, H., Naquet, R. (1975) Sleep, subcortical stimulation and kindling in cat. *J. Can. Sci. Neurol.* 447-515 p.
- Thomas, J., y Benoit, O. (1967) Individualisation d' un sommeil a ondes lentes et activité phasique. *Brain* 5, 221-235.
- Valatx, J.L. Jouvét, D. y Jouvét, M. (1964) Evolution electroencephalographique des différents états de sommeil chez le chat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 17, 218-233.
- Valleala, P. (1967) The temporal reallion of unit discharge in visual cortex and activity of the extracelular muscles

during sleep. Arch. Ital. Biol. 105, 1-15.

Valleala, P., Laihnén, A. y Vaahtoranta, K. (1979) Pontine gigantocellular field neuron activity timelocked with the PGO waves in the transitional phase of sleep in the cat. Medical Biology. 57, 357-361.

Vertes, R.P. (1977) Selective firing of rat pontine gigantocellular neurons during movement and REM sleep. Brain Res. 128, 146-152.

Vertes, R.P. (1979) Brain stem gigantocellular neurons: Patterns of activity during behavior and sleep in the freely moving rat. J. Neurophysiol. 42, 214-228.

Vertes, R.P. (1980) Brain stem activation of the hippocampus: A role for the magnocellular reticular formation and the MLF. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 50, 48-58.

Vertes, R.P. (1982) Brain stem generation of the hippocampal EEG. Prog. Neurobiol. 19, 159-186.

Vertes, R.P. (1984) Brainstem Control of the Events of REM Sleep. Progress in Neurobiology. Vol. 22, pp 241-288.

Vivaldi, E., McCarley, R.W. y Hobson, J.A. (1980) Evocation of desynchronized sleep signs by chemical microstimulation of the pontine brain stem. En: The Reticular Formation Revisited: Specifying Function for a Non Specific System. Eds. Hobson, J.A., Brazier, M.A.B. Raven IBRO Monogr. Serv., New York. 6, 513-529.

Von Economo, C. (1929) Die pathologie des schlafes: Schlaftheorie. Ergebn. Physiol. 28, 312-339.

Wauquier, A., Clinckae, G.H.C., Van den Broeck, W.A.E. y De Prins, E. (1985) Active and Permissive Roles of Dopamine in sleep-wakefulness regulation. En; Sleep: Neurotransmitter and Neuromodulator. pp. 107-120. Ed. A. Wauquier, A., et. al. Raven Press, New York.

Weiss, T. (1966) Discussion of "The D-state" for E. Hartmann. Int. J. Psychiatr. 2, 32-36.