

11260

2ej
2

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

MODULACION DEL SUERO DE MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS (MOR)
POR ESTIMULACION SENSORIAL

T E S I S

Que para obtener el Grado de
Maestra en Investigación Biomédica
Básica

Presenta:

BIOL. GLORIA MARGARITA ARANKOWSKY SANDOVAL

1987

FALLA DE ORIGEN



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.

CONTENIDO

Agradecimientos.....	
Resumen.....	1
Introducción	
A.- El ciclo vigilia-sueño:	
I. Aspectos Generales.....	3
II. Las Espigas PGO.....	7
III. Regulación Colinérgica del Sueño MOR.....	12
IV. Estimulación eléctrica cerebral y sueño.....	16
V. Vías Sensoriales y sueño.....	16
B.- Artículos (Métodos y resultados).....	26
C.- Discusión General.....	44
D.- Referencias.....	49

RESUMEN

La estimulación auditiva durante el transcurso del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), incrementa la duración de dicha fase de sueño, así como la densidad de espigas ponto-genículo-occipitales (PGO). El aumento simultáneo de ambos parámetros sugirió que la densidad de espigas PGO podría mediar el incremento observado en la duración del MOR.

La finalidad de este trabajo fue determinar si el aumento en la duración del MOR a consecuencia de la estimulación auditiva está relacionado con las espigas PGO o es independiente de éstas. Para este efecto se determinaron los cambios en la duración del sueño MOR por estimulación auditiva en animales tratados con sulfato de atropina, la cual induce disminución de la densidad de espigas PGO. Asimismo, se trató de comprobar si la estimulación somática produce un efecto similar al observado con la estimulación auditiva.

Los resultados mostraron que tanto la duración del sueño MOR como las espigas PGO se ven disminuidos aún por la dosis más baja de atropina. Sin embargo, se pudo observar que los dos parámetros presentan diferentes sensibilidades a la inhibición colinérgica. Por otra parte, el estímulo auditivo en el animal tratado con atropina continuó produciendo un incremento en la duración del MOR sin observarse un aumento concomitante en la densidad de espigas PGO. Dichos resultados sugieren que el efecto del estímulo no está mediado a través de las espigas PGO.

En relación a la estimulación somática, se encontró que ésta también produce un incremento en la duración del MOR, así como de la densidad de las espigas PGO, lo cual sugiere que probablemente todas las modalidades sensoriales podrían tener el mismo efecto.

En base a los resultados no se acepta la hipótesis de que las espigas PGO participan en la producción de este fenómeno. Tomando en consideración los antecedentes en la literatura, se propone como hipótesis alternativa, que el incremento en la duración del sueño MOR por estimulación sensorial podría estar mediado a través de un aumento en los niveles de excitabilidad de neuronas polisensoriales de la formación reticular.

INTRODUCCION

I. GENERALIDADES

La adaptación de los organismos al medio ambiente que los circunda, depende en gran parte de relojes biológicos endógenos que son susceptibles de ser regulados por estímulos externos, como la luz y la temperatura. Dicha interacción da como resultado la presentación periódica o cíclica de múltiples eventos biológicos, entre los que se cuentan el ritmo prandial, la migración, secreción hormonal y el ciclo vigilia-sueño.

A pesar de que los mamíferos se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes ambientes y sus hábitos conductuales son muy variables de una especie a otra, se puede considerar que el ciclo vigilia-sueño se presenta de una forma homogénea, ya que casi todas las especies estudiadas hasta la fecha presentan esencialmente tres estados de vigilancia: vigilia, sueño de ondas lentas y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR). Estas fases de sueño se caracterizan por los cambios funcionales de numerosas áreas del cuerpo, incluyendo las funciones motoras, sensoriales y autónomas, las señales eléctricas de estructuras nerviosas y en el hombre la actividad mental.

El ciclo vigilia-sueño ha sido bien caracterizado en el gato (Jouvet, 1962), de la siguiente manera (Fig. 1).

1. Estado de alerta: La cabeza del animal se encuentra levantada, observándose una dilatación de la pupila (midriasis), y las membranas nictitantes retraídas, apareciendo en el registro de electromiograma una gran

actividad muscular. La actividad cortical y subcortical es de bajo voltaje, inferior a 50 microvolts (μV), y rápida, de 20 a 30 ciclos por segundo (cps).

2. Estado de reposo: Se caracteriza porque los ojos del animal se encuentran parcialmente cerrados, las membranas nictitantes se ven relajadas de dos a tres mm de longitud, las pupilas tienen una dilatación aproximada de dos mm, la actividad muscular es todavía notoria y el ritmo cardíaco disminuye ligeramente al igual que el ritmo respiratorio. El electrocorticograma denota una actividad regular de 5 a 8 cps.

3. Estado de sueño lento: En el curso de este estado, el animal recuesta la cabeza progresivamente y toma una posición típica de sueño, tendido sobre el vientre. Los ojos permanecen cerrados y la membrana nictitante se relaja totalmente, mientras que el diámetro pupilar es de 1 mm.

Aparecen algunos movimientos lentos de los globos oculares. La actividad del electromiograma disminuye ligeramente pero no llega a desaparecer. La frecuencia cardíaca disminuye, lo mismo que el ritmo respiratorio que se hace más amplio y regular. Paralelamente a este comportamiento de sueño se presenta una actividad cortical que se manifiesta al principio por la aparición de husos de 12 a 18 cps predominando a nivel de la formación reticular mesencefálica. Poco a poco y asociadas a estos husos aparecen las ondas lentas, de 2 a 4 cps y de 150 a 250 μV . Estas ondas lentas de alto voltaje se presentan tanto en los

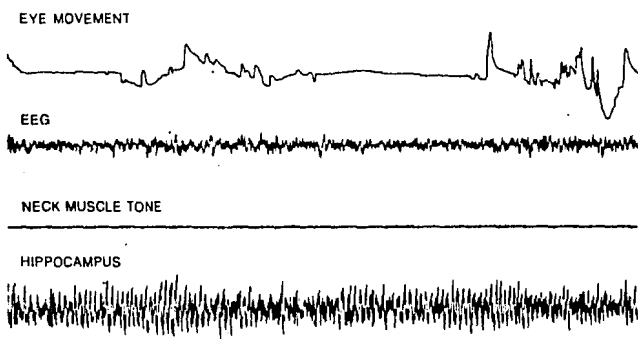
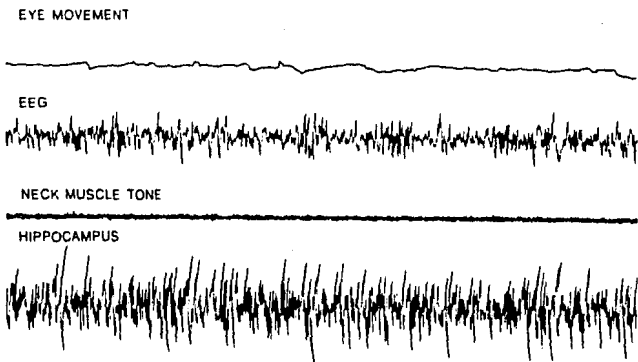
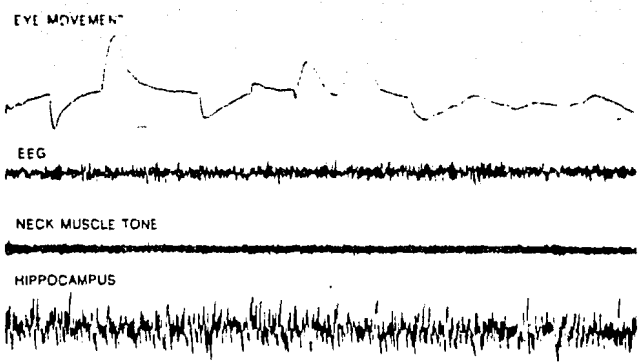


Fig. 1. Tres estados de vigilancia (vigilia, sueño lento y sueño MOR) son detectables en el gato por cambios conductuales y electrofisiológicos. Ver explicación en el texto (tomado de Morrison, 1983).

niveles de estructuras talámicas medias, como en la parte media del tegmento mesencefálico.

4. Estado de sueño MOR: Se caracteriza por una total atonía del animal. La actividad electromiográfica de los músculos de la nuca desaparece totalmente. También aparecen movimientos oculares rápidos y explosivos, laterales o verticales, mientras que las membranas nictitantes se encuentran totalmente relajadas.

Durante esta fase de sueño se presentan movimientos de vibrisas y sacudidas de las orejas y extremidades, denominadas mioclonías. Si la fase MOR es suficientemente larga, la temperatura rectal disminuye con respecto a la registrada durante la fase de sueño lento, observándose además la aceleración de los signos cardiorespiratorios.

Desde el punto de vista electroencefalográfico, el sueño MOR se caracteriza por una actividad cortical, diencefálica y mesencefálica rápida, de 20 a 30 cps, y de bajo voltaje, de 20 a 30 uV, similar al de la vigilia. Esta actividad coincide con la desaparición del electromiograma de la nuca.

En general la duración media del sueño MOR en el gato es de 6 - 7 minutos. Jouvét, en 1967, designó a esta etapa de sueño MOR como sueño paradójico, ya que contrasta la atonía muscular que caracteriza a esta fase con la actividad eléctrica cerebral muy parecida a la de la vigilia.

Según su distribución en el tiempo, esta fase de sueño se ha dividido en eventos fásicos y tónicos:

Tónicos

Desincronización del EEG
Supresión del electromiograma
Elevación de la temperatura cerebral
Incremento del flujo sanguíneo cerebral

Fásicos

Contracciones de los músculos del oído medio.
Cambios respiratorios.
Mioclonías
Espigas PGO
Descargas de la formación reticular mesencefálica

II. ESPIGAS PGO

Uno de los parámetros más conspicuos que caracterizan al sueño MOR es la presencia de ondas monofásicas de gran amplitud, las cuales se han registrado en el puente (Jouvet y col., 1959), los cuerpos geniculados laterales (Mikiten y col., 1961) y la corteza occipital (Brooks y Bizzi, 1963). Debido a su localización anatómica se han denominado espigas ponto-genículo-occipitales (PGO), las cuales se presentan de manera simultánea en dichas estructuras (Fig. 2). Asimismo, se ha observado que existe una correlación entre las PGO y los movimientos oculares, lo que sugiere que estas espigas están relacionadas con algún mecanismo de integración oculomotora (Brooks, 1967).

Existen abundantes evidencias que sugieren cuáles son las estructuras y mecanismos que intervienen en la aparición de las ondas PGO. En principio, varios estudios muestran la participación de neuronas serotoninérgicas en el control de estas espigas, ya que la interferencia con este tipo de transmisión mediante la administración de reserpina o paraclorofenilalanina,

inducen la presencia continua de PGO en vigilia (Jouvet, 1972; Brooks y col., 1972; Stern y col., 1972) (Fig. 3).

Otros trabajos han mostrado que la estimulación de los núcleos dorsales del rafe (NDR), los cuales contienen serotonina, suprime por completo la actividad PGO durante sueño MOR (Dement y col., 1972). Asimismo, las espigas provocadas por la acción de reserpina se suprimen por la estimulación de los NDR (Kostowsky y col., 1976), en contraste con el gran incremento de éstas después de lesiones que abarcan una gran extensión de dichos núcleos (Simon y col., 1973).

Por otra parte, existe evidencia de que los cuerpos geniculados reciben aferencias extrarretinales que están involucradas en la generación de las espigas PGO. Así, se ha reportado que las neuronas de la formación reticular pontina que se encuentran cercanas al núcleo parabrachialis envían aferentes a las estructuras visuales antes mencionadas (Sakai, 1980) y su actividad se encuentra muy relacionada con las espigas PGO registradas en ellas (Saito y col., 1977).

Otro hecho que apoya el probable origen pontino de las ondas PGO es que la estimulación de los sitios del puente en los cuales se registra esta actividad, las provoca en los cuerpos geniculados, sin embargo, esto no ocurre si se estimula en sentido inverso (Bizzi y Brooks, 1963).

Estudios basados en el uso de fármacos agonistas y antagonistas de acetilcolina, así como la estimulación de la formación reticular, sugieren que las neuronas de los cuerpos

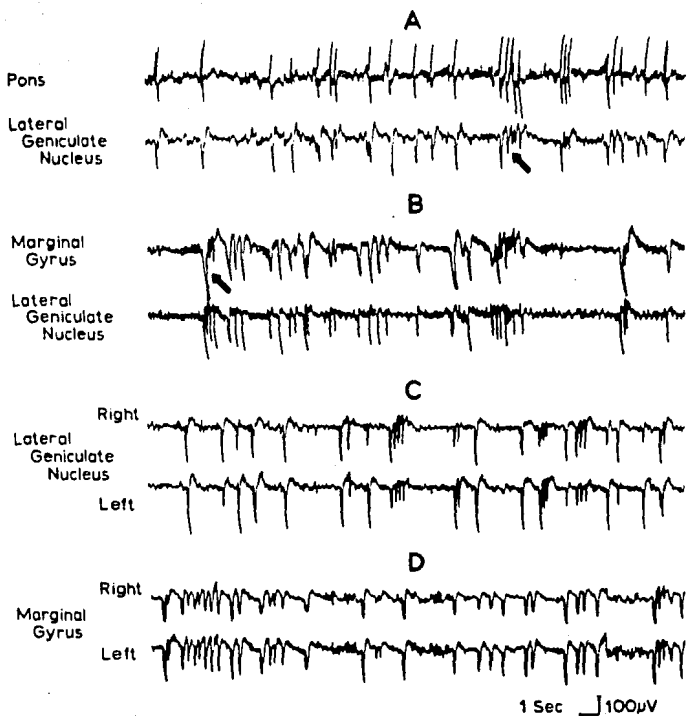


Fig. 2. Presentación simultánea de las espigas PGO en distintas estructuras. Cada par de registros corresponde a períodos de sueño MOR en diferentes animales (tomado de Brooks, 1967).



Fig. 3. Descargas regulares de espigas PGO en el geniculado lateral (GL) acompañados por movimientos oculares laterales (MY), 6 horas después de la aplicación intraperitoneal de reserpina. La actividad cortical rápida (CV) y la persistencia del tono muscular (M) son característicos de la vigilia (tomado de Delorme y col., 1966).

geniculados son colinoceptivas. Por ejemplo, el cuerpo geniculado lateral se tiñe densamente para acetilcolinesterasa, y la aplicación por iontoforesis de acetilcolina, carbamilcolina y nicotina producen respuestas excitatorias de dicho núcleo. Este mismo efecto se observó con la administración de anticolinesterasas como la eserina y la neostigmina. Por otra parte, la aplicación de sulfato de atropina produjo un decremento significativo de la respuesta excitatoria ya mencionada (Phillis y col., 1967; Matsuoka y col., 1971). Otros trabajos que sugieren una participación colinérgica en la generación de las PGOs son los realizados por Jacobs y colaboradores (1972), en los cuales se observó que la administración sistémica de atropina produce una disminución en la densidad de dichas espigas.

En conjunto, los datos señalados con anterioridad han llevado a la conclusión de que neuronas serotoninérgicas que tienen sus cuerpos celulares en los núcleos del rafe, ejercen una influencia inhibitoria sobre un marcapasos colinérgico situado en la formación reticular, y que la liberación de dicha influencia permite que se manifiesten las ondas PGO durante sueño de movimientos oculares rápidos.

Ya que las espigas PGO preceden cada período de sueño MOR y señalan su inminente aparición, se ha sugerido que estas podrían estar relacionadas con el disparo y mantenimiento de esta fase de sueño (Dement, 1969). Sin embargo, la estimulación directa del puente, la cual induce la aparición de espigas PGO, no produce ni prolonga el sueño MOR (Bizzi y col., 1963). Aún más, estudios en gatos recién nacidos han mostrado que a pesar de las altas proporciones de sueño MOR que presentan, las ondas PGO aparecen

hasta quince días posteriores al nacimiento (Bowe Anders, 1974).

Por otra parte, se han obtenido resultados que sugieren que las PGD representan una respuesta de alerta como resultado de una activación intrínseca de la formación reticular. Esta activación es homóloga con la que ocurre en respuesta a los estímulos nuevos durante la vigilia (Bowker y col., 1976; Morrison y col., 1975). Estos investigadores encontraron que mediante la estimulación por sonidos y luces intermitentes, podían provocar espigas PGD en el cuerpo geniculado de gatos, durante sueño lento y MOR. Las espigas provocadas eran idénticas en forma y amplitud a las que aparecen espontáneamente durante esta última fase de sueño. Efectos similares provocados por la estimulación auditiva se han observado en ratas (Kaufman y col., 1981) encontrándose espigas PGD durante vigilia y sueño.

III. REGULACION COLINERGICA DEL SUEÑO MOR.

La neuroquímica del sueño y las regiones cerebrales involucradas en su producción han sido motivo de numerosos estudios. En ellos la atención se ha dirigido principalmente a 2 aspectos: la búsqueda de una región neuronal específica o "centro" responsable de la manifestación del sueño y del "factor" ó "factores" hipnogénicos relacionados con éste. Dicha búsqueda ha dado como resultado el descubrimiento de una gran variedad de estructuras, neurotransmisores y péptidos que se han postulado como responsables de la generación de ambas fases de sueño. A pesar de ello, no existe hasta la fecha una teoría que explique convincentemente los mecanismos relacionados al sueño (Drucker-

Colín y col., 1985).

Una de las teorías que más auge ha tenido es la llamada monoaminérgica (Jouvet, 1969). De acuerdo a ésta, las neuronas de los núcleos dorsales del rafe en el tallo cerebral liberan serotonina, la cual inicia la fase de sueño lento; mientras que las neuronas caudales del mismo núcleo inician la fase de sueño MOR. Una vez iniciado el sueño paradójico, su mantenimiento requiere catecolaminas. Las neuronas del tercio caudal del locus coeruleus que contienen norepinefrina, son responsables de la atonía muscular propia del MOR. Por otra parte, la vigilia y el despertar cortical, son dependientes de neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus anterior, dopaminérgicas de la formación reticular medial y colinérgicas de la corteza.

Por otra parte, experimentos más recientes ponen en entredicho a esta teoría. Por ejemplo, los fármacos que reducen los niveles de norepinefrina (6-hidroxidopamina, alfametil paratirosina), producen una disminución paralela del sueño MOR (Laguzzi y col., 1972); sin embargo, los antidepresivos tricíclicos y los inhibidores de la monoamino oxidasa, quienes incrementan la disponibilidad de norepinefrina, también disminuyen el MOR (Vogel, 1983).

La hipótesis de una posible participación de mecanismos colinérgicos en la producción del sueño se originó a partir de los estudios realizados por Hernández-Peón y col., (1963). En dichos estudios se observó que la aplicación de cristales de acetilcolina en varios puntos del sistema límbico y del tegmento mesencefálico producían somnolencia y sueño lento con una latencia de 1-4 minutos. Asimismo, este efecto podía bloquearse

con atropina (Velluti y col., 1963).

Otros trabajos han señalado la posible intervención de mecanismos colinérgicos en la generación del sueño MOR. Así, la administración sistémica de atropina en el gato, en dosis de 1 a 3 mg/kg de peso, suprimen dicha fase de sueño (Jouvet, 1962). El mismo efecto se observó con las inyecciones intraventriculares de hemicholinium-3, un bloqueador de la síntesis de acetilcolina (Domino y col., 1971).

Por otra parte, en trabajos más recientes se ha encontrado que la estimulación colinérgica de la formación reticular del puente produce un estado sumamente parecido al sueño MOR (Silberman y cols., 1980; Hobson, 1980) (Fig. 4). De tal manera que las microinyecciones de carbacol en el campo tegmental gigante celular (FTG) inducen conducta de sueño en el gato, así como signos polisomnográficos típicos del sueño MOR. Asimismo, la aplicación de neostigmina, un inhibidor de la acetilcolinesterasa, incrementa el porcentaje, la duración y frecuencia del sueño MOR, efecto que puede ser bloqueado con atropina (Baghdoyan y col., 1983). En este mismo trabajo, la microestimulación del mesencéfalo o la médula oblongada no fue capaz de reproducir los signos del sueño MOR. Por estas razones, se ha propuesto a la FTG como el sitio responsable de la generación y mantenimiento del sueño MOR, sin embargo, la lesión de esa estructura con ácido kainico, no impide la presentación de dicha fase de sueño (Drucker-Colin y col., 1983). Este hecho indica que esas neuronas son importantes mas no indispensables para producir el sueño MOR.

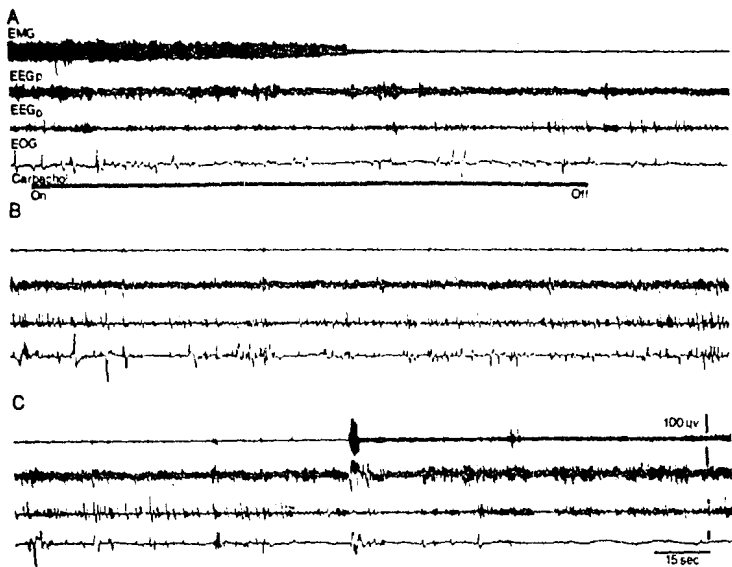


Fig. 4. Registro poligráfico del inicio (A), la mitad (B) y el final de un prolongado período de sueño MOR inducido por Carbacol. En A se puede observar la abrupta pérdida del tono muscular que se presenta durante la infusión de 4 μ g de Carbacol en el campo tegmental gigantocelular (FTG). Asimismo, se aprecian la desincronización de la corteza parietal (EEGp) y la aparición de ondas PGO en la corteza occipital (EEGo), acompañados de movimientos oculares (EOG). En B (1.5 h después de A) los patrones característicos del MOR son aún más pronunciados que en A. C, 3.5 h después de A, el animal despierta espontáneamente de manera similar a la que se observa en animales controles (tomado de Silberman y col., 1980).

IV. ESTIMULACION ELECTRICA

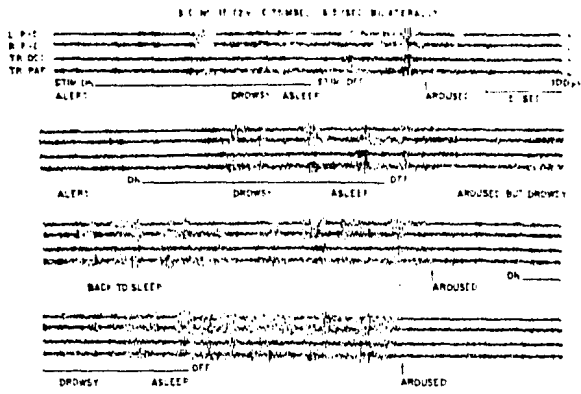
Fue Hess, en 1944 (citado en Jouvet y Moruzzi, 1972) quien demostró por primera vez que la estimulación de estructuras nerviosas, usando bajas frecuencias y bajos voltajes producían una conducta muy parecida al sueño (Fig. 5). Las áreas que estimuló fueron la masa intermedia en el tálamo y el hipotálamo anterior lateral, incluyendo las áreas hipotalámicas supraóptica y preóptica. Estos resultados fueron corroborados posteriormente por Serman y Clemente (1961), quienes reportan que los animales cesaban la conducta de alerta y adoptaban una posición típica de sueño hasta llegar a la instalación real del mismo.

Por otro lado, el sueño MOR también se ha podido inducir por estimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica y pontina. Los componentes de dichos períodos MOR fueron parecidos a los que se presentaban de manera espontánea (Jouvet y col., 1960; Rossi y col., 1961). Asimismo, Monti (1970) ha demostrado que la estimulación de la formación reticular pontina al nivel del núcleo reticular pontis oralis induce un incremento significativo en el número de períodos MOR así como del tiempo total de dicha fase de sueño. Otros estudios en la rata, han mostrado que el sueño lento y el MOR pueden incrementarse por estimulación eléctrica dentro de los ventrículos laterales (Dupuy y col., 1983).

V. VIAS SENSORIALES Y SUEÑO.

Por otra parte, los estudios cuyo objetivo ha sido examinar

A



B

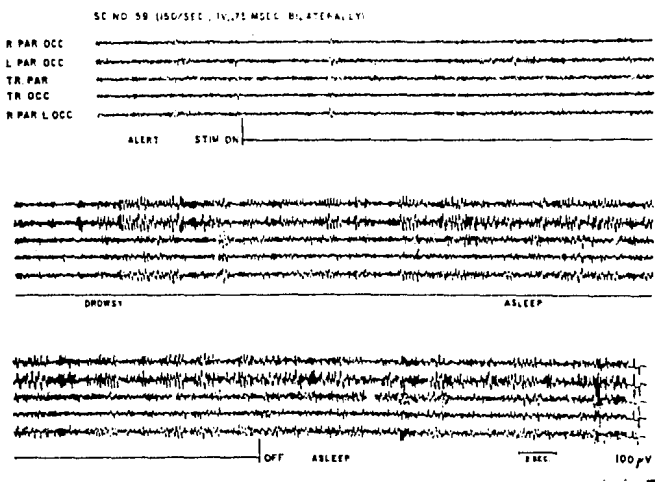


Fig. 5. Sincronización del electroencefalograma acompañado de signos conductuales de sueño, después de la estimulación bilateral del área preóptica. Los animales en libre movimiento fueron estimulados con bajas (A) y altas frecuencias (B), respectivamente (tomado de Serman y Clemente, 1962).

la actividad de las vías sensoriales a través del ciclo vigilia-sueño han demostrado que se pueden obtener respuestas de algunos núcleos que son parte de las vías de relevo y de procesamiento de información sensorial. Por ejemplo, Winters y col., (1967), han observado, mediante potenciales provocados, que los componentes tempranos de la respuesta a la estimulación auditiva se incrementa en función de la intensidad del estímulo en todos los estados de sueño. Asimismo, para cualquier intensidad, las respuestas fueron mayores durante la vigilia, de menor amplitud durante sueño lento y aún menores durante sueño MOR. Sin embargo, a pesar de esta reducción en las respuestas eléctricas al estímulo, la información sensorial tiene acceso a la corteza auditiva primaria y el núcleo coclear responde a estímulos auditivos durante el sueño lento y el MOR (Huttenlocher, 1960). Otras neuronas, como las del rafe dorsal, también son capaces de responder a estímulos auditivos y visuales durante el sueño, sin presentar habituación a estímulos repetitivos (Hayne y col., 1982) (Fig. 6); mientras que en el locus coeruleus las respuestas a estímulos auditivos, somatosensoriales y visuales están atenuadas durante el sueño lento y ausentes durante el MOR (Ashton Jones y col., 1981). Este mismo efecto se ha observado cuando se estimula auditivamente la sustancia nigra (Steinfels y col., 1983) (Fig. 7).

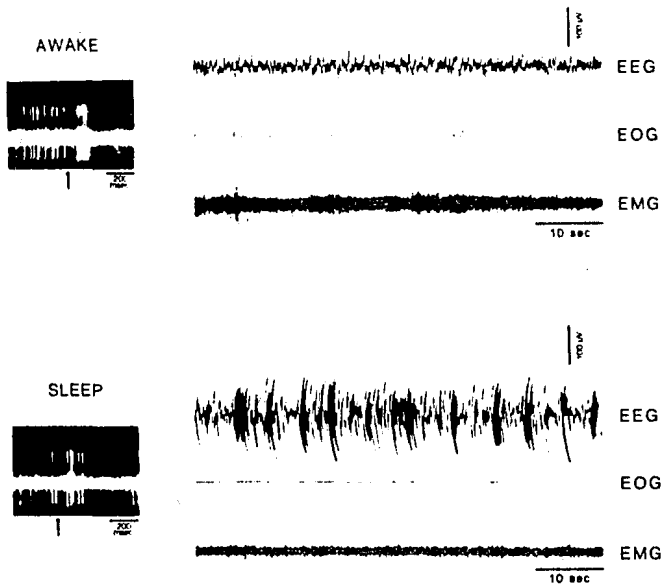


Fig. 6. Similitud en la respuesta de una neurona serotoninérgica (izquierda) a la presentación repetitiva de un estímulo auditivo durante la vigilia y el sueño lento (derecha) (tomado de Heym y col., 1982).

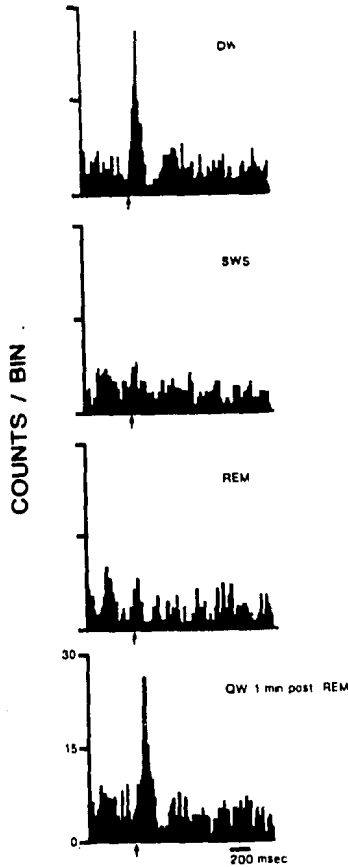


Fig. 7. Respuesta de una neurona dopaminérgica a estimulación auditiva, durante el ciclo vigilia-sueño. Obsérvese la atenuación de la respuesta excitatoria al pasar de la vigilia (QW) al sueño lento (SWS) y durante el sueño de movimientos oculares rápidos (REM) (Tomado de Steinfels y col., 1983).

En relación al sistema somatosensorial también se han llevado a cabo estudios con potenciales provocados durante el sueño. Allison en 1965, encontró que la respuesta primaria de la corteza somatosensorial se incrementa de la vigilia al sueño lento, presentándose un aumento mayor durante el sueño MOR. Estos resultados han sido confirmados por Howe y Sterman (1972) quienes sugieren que el sistema somatosensorial está participando activamente en el procesamiento de información sensorial durante el sueño. Esta idea encuentra apoyo en el hecho de que la deafferentación somatosensorial en el gato (Bowersox y col., 1983) y en el humano (Adey y col., 1968) incrementan los niveles de vigilia a expensas de una reducción en el sueño lento y el MOR (Fig. 8).

Respecto a las respuestas vestibulo oculares, se ha demostrado que disminuyen progresivamente durante el sueño de tal manera que durante la fase de ondas lentas hay un decremento del 40% y durante el MOR están totalmente ausentes (Tauber y col., 1972; Flandrin y col., 1979).

Roitback, en 1960, encontró que la estimulación a bajas frecuencias de la piel de gatos y perros produce somnolencia y eventualmente sueño con ondas lentas en el electroencefalograma. En este caso no fue posible determinar que aferentes cutáneas eran las responsables del efecto hipnogénico observado. Posteriormente, Pompeiano y Swett (1962) confirmaron los resultados de Roitback al estimular eléctricamente fibras aferentes cutáneas y musculares. Aún más, ellos demostraron que este efecto estaba mediado a través de vías que cursan en el

STATE PATTERN DISTRIBUTIONS
DURING 24 HOUR OBSERVATION OF
CATS OF ALL EXPERIMENTAL GROUPS

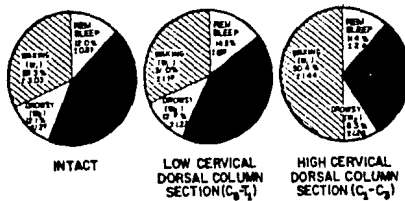


Fig. 8. Distribución del ciclo vigilia-sueño en animales intactos y con lesión de las columnas dorsales en 2 diferentes niveles. Se observa un aumento en el porcentaje de la vigilia y una disminución del sueño lento en los animales con secciones cervicales superiores (tomado de Bowersox y col., 1983).

Grupo II de fibras cutáneas. Asimismo, se ha observado que se puede obtener sincronización cortical por estimulación de fibras aferentes vagales (Bonvallet y Sigg, 1958) y de la región del núcleo de tracto solitario (Magnes y col., 1961) en el gato. Otro tipo de estimulación, como la luminosa también produce signos conductuales de sueño así como sincronización del electroencefalograma tanto en el gato (Mancia y cols., 1959) como en el humano (Gastaut y col., 1961, citado en Jouvet y Moruzzi, 1972).

Estudios más recientes (Drucker-Colin y col., 1983) han mostrado que la estimulación auditiva (2KHz, 20 msec), en el gato, incrementa la densidad de espigas PGO durante sueño MOR, encontrándose también un gran incremento en la duración de esta fase de sueño, así como una disminución de la latencia para su aparición (Fig. 9).

El aumento simultáneo de ambos parámetros sugiere la idea de que la densidad de PGOs podría estar mediando el incremento observado en la duración del MOR. Sin embargo, este hecho puede deberse también a que las vías sensoriales, en este caso la auditiva, ejerciera una acción directa sobre los mecanismos productores del sueño MOR.

Este trabajo tiene la finalidad de elucidar cual de estos dos mecanismos podría estar actuando. Las espigas PGO dependen de mecanismos colinérgicos ya que se ha observado que la administración de sulfato de atropina disminuye notablemente su densidad, por lo tanto, se llevarán a cabo experimentos en los cuales se combinará la estimulación auditiva y la administración

de atropina. En caso de que la estimulación auditiva continúe produciendo aumento del sueño MOR a pesar de que las espigas FGD estén disminuídas, se sugeriría que las vías sensoriales ejercen una acción directa sobre los mecanismos productores del sueño MOR. Por otra parte, se llevarán a cabo experimentos de la vía somestésica con el objeto de determinar si el fenómeno es general de las vías sensoriales o particular de la vía auditiva.

VI

METODOS

Y RESULTADOS

BRE 21585

Cholinergic reduction of REM sleep duration is reverted by auditory stimulation

GLORIA ARANKOWSKY-SANDOVAL, OSCAR PROSPERO-GARCIA,
RAUL AGUILAR-ROBLERO and RENÉ DRUCKER-COLIN

*Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México,
México, D.F. (México)*

(Accepted February 11th, 1986)

Key words: rapid eye movement (REM) sleep duration — pontogeniculo-occipital (PGO) spike — atropine — auditory stimulation

It was previously shown that an auditory stimulus given prior to and throughout a rapid eye movement (REM) sleep period was capable of inducing a significant increase in REM sleep duration and pontogeniculo-occipital (PGO) spike density. The purpose of this study was to determine whether the increase in REM duration is dependent on PGO spike density. We administered atropine to cats at doses of 0.1–0.6 mg/kg and the effects on REM duration and PGO spikes was determined. The doses of 0.2 and 0.3 mg/kg of atropine were then utilized to compare REM sleep periods with and without auditory stimulation. The results showed that both REM duration and PGO spikes were decreased by atropine, but could be dissociated from each other depending on the doses. In addition, it was shown that the auditory stimulus protected the animals from the effects of atropine but only in relation to REM sleep duration. The results indicate that both REM sleep duration and PGO spikes have a cholinergic component and that the auditory stimulus exerts its REM enhancing properties in a manner which seems to be independent of the PGO spike density. The results are discussed in terms of receptor availability and/or excitability levels of medial reticular neurons.

Rapid eye movement (REM) sleep is always preceded in the cat by a period lasting around 1 min referred to as slow wave sleep (SWS) with pontogeniculo-occipital (PGO) spikes. This means that the presence of PGO spikes during SWS signals the imminent appearance of a REM sleep period. Recently we have reported⁴ that an auditory stimulus presented during SWS with PGO spikes and throughout REM sleep, produces an almost 100% increase in the duration of REM sleep. In this same study PGO spike density was also increased and it was therefore suggested that the increase in PGO spikes may have been responsible for prolonging the REM sleep periods. The issue as to whether PGO spikes or the so-called 'PGO spike system' plays a role in priming and maintaining REM sleep is an old one, with some evidence for it³ and some against it¹³, unfortunately, neither too compelling. In this study, we have attempted to determine whether the increase in REM duration, as a result of auditory stimulation, is related to PGO spike density or is independent of it.

Since a few studies have suggested that PGO spikes are cholinceptive^{5,7}, we have attempted to determine whether the REM enhancing properties of the auditory stimulus is modified in animals with a diminished PGO spike density induced by atropine. This additionally afforded us to carry out the first dose-response study on the effects of atropine on REM sleep and PGO spike density. Such study was considered very useful in view of the recent revival^{1,2} of the possible cholinergic regulation of REM sleep^{6,10,14}.

Thirty-six cats of either sex were used in this study. Under pentobarbital anesthesia (35 mg/kg) they were stereotaxically implanted with bipolar electrodes in the lateral geniculate nucleus (LGN). In addition, screw electrodes were inserted in the parietal bone for recording the EEG and on the external canthus of the eye for recording eye movements. Wire electrodes were also introduced into the neck muscles for recording the electromyogram. All animals were allowed to recover a minimum of 7 days. Upon

Correspondence: R. Drucker-Colin, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado postal 70-600, 04510 México, D.F., México.

0006-8993/86/\$03.50 © 1986 Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division)

recovery the cats were placed inside a cage within a sound attenuated room and the sleep-wake cycle recorded through a Grass Model 79 D Polygraph. The sleep-wake cycle of 24 of the cats was recorded for a period of 8 h (10.00-18.00 h). Once a control period was obtained for each animal, they were divided into groups of 4, to be administered doses of atropine varying from 0.1 mg/kg to 0.6 mg/kg. Atropine sulfate was injected i.m. a few minutes before 10.00 h and each animal again recorded for a period of 8 h. Only the REM sleep periods and the PGO spikes were scored, the reason being that since atropine synchronizes the EEG almost from the start, it was practically impossible at times to distinguish with confidence waking from SWS. At the end of the experiments testing for the effects of atropine on REM sleep duration and PGO spike density, it was decided to study the effects of the auditory stimulation on cats treated with atropine at doses of 0.2 and 0.3 mg/kg. Such doses were those in which the PGO spike density and REM sleep duration were found to be at the peak of dissociation. Thirteen cats were used in this experiment. The cats were placed in a recording cage with a speaker located inside. The sleep-wake cycle of the cats were recorded for variable periods of time (7-10 h) and on each alternate REM sleep periods an auditory stimulus in the form of a beep (2 kHz, 90 dB) with a 20 ms duration was applied every 20 s at the beginning of each REM sleep period or slightly before and throughout its duration. Cats had no previous experience with either the beep or any other similar auditory stimulus. A total of 270 REM sleep periods were obtained of which 150 were without and 120 with stimulus. The same procedure was carried out with cats injected either with 0.2 or 0.3 mg/kg of atropine. A total of 151 REM sleep periods were

studied. With 0.2 mg/kg there were 60 REM periods, without and 30 with auditory stimulation and with 0.3 mg/kg there were 36 REM periods without and 25 with auditory stimulation. Significances were determined with Student's *t*-test.

The results of the effects of atropine are summarized in Table I. It can be seen that with the lowest dose of atropine (0.1 mg/kg) there is a 29% reduction in the duration of REM sleep and a 30% decrease in PGO spike density as compared to controls. At the dose of 0.3 mg/kg the reduction of REM duration reaches 58%, but there is no further decrease of PGO spike density. However, at the doses of 0.5 and 0.6 mg/kg the PGO spike density shows a further decrease to around 44%, with no further decreases in REM duration. All reductions when they occurred were significant (see Table I).

The effects of the auditory stimulation is graphed in Fig. 1 and summarized in Table II. All REM sleep periods with stimulus were longer in duration than the non-stimulated controls providing these comparisons were made within the same cat and on its corresponding session. The mean REM duration increased to around 40% (Table II) which was significant ($t = 9.82, P < 0.001$). Again the administration

TABLE I

Effects of atropine on REM sleep duration and PGO spikes

Atropine (mg/kg)	REM duration (min) ($\bar{X} \pm S.D.$)	PGO spike density/unit ($\bar{X} \pm S.D.$)
0	6.30 \pm 2.25	60.2 \pm 11.1
0.1	4.38 \pm 1.47*	42.2 \pm 13.4*
0.2	4.24 \pm 2.20*	44.2 \pm 13.5*
0.3	2.44 \pm 1.55*	45.9 \pm 10.4*
0.4	2.18 \pm 1.00*	45.4 \pm 8.3*
0.5	2.53 \pm 1.16*	34.3 \pm 12.3*
0.6	2.28 \pm 1.03*	36.9 \pm 9.8*

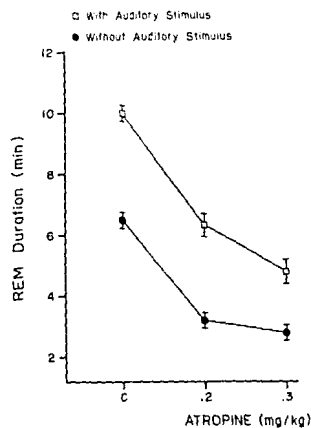
* $P < 0.001$.

Fig. 1. Graph showing the mean and S.E.M. of REM duration with and without auditory stimulation, under control (C) conditions and with 0.2 and 0.3 mg/kg of atropine. Note how the auditory stimulus increased REM duration in C and protected the cats from the decrease produced by atropine. All differences were significant ($P < 0.001$).

TABLE II

Effects of atropine on REM duration and PGO spikes with and without auditory stimulation

Atropine (mg/kg)	REM duration in min (X ± S. D.)		PGO spike density/min (X ± S. D.)	
	Non-stimulated	Stimulated	Non-stimulated	Stimulated
0	6.30 ± 2.25	10.10 ± 3.15*	60.2 ± 11.1	65.5 ± 10.5*
0.2	3.15 ± 2.00	6.27 ± 2.07*	43.0 ± 13.3	45.8 ± 11.8
0.3	2.50 ± 1.25	4.47 ± 2.10*	45.4 ± 9.0	46.3 ± 10.2

* $P < 0.001$.

of 0.2 mg/kg of atropine significantly decreased REM duration to 50%, however, in the presence of the auditory stimulus this decrease was eliminated and REM sleep duration was almost identical to the non-stimulated control (Table II). PGO spike density/min was also decreased with atropine, however, the auditory stimulus did not produce an increase of PGO spike in the presence of atropine. The same was seen at the dose of 0.3 mg/kg despite the fact that there was a further decrease of REM sleep duration and the stimulus again reverted this effect, though not to exact non-stimulated control levels. The differences in REM duration between stimulated and non-stimulated periods with 0.3 mg/kg were also significant ($t = 3.95$, $P < 0.001$).

The results of this study indicate that both the duration of REM sleep and the PGO spikes have a cholinergic component, since both are affected by even the lowest dose of atropine. This study is therefore in agreement with studies which have shown that atropine can block the effects of cholinergic agonists on REM sleep^{2,14}. It is interesting to note, however, that REM duration and PGO spikes seem to have different sensibilities to cholinergic inhibition. Although both parameters were significantly reduced by the lowest dose of atropine, additional reductions were differentially produced. The dose of 0.3 mg/kg induced a further decrease of REM duration without a concomitant reduction of PGO spikes; however, at the dose of 0.5 mg/kg PGO spikes were further decreased without an additional reduction in REM

sleep duration. Such results strongly suggest that REM sleep duration and PGO spikes are independent of each other, although they are both at least partially under cholinergic control.

The results of this study also confirm our previous communication⁴, showing that an auditory stimulus is capable of increasing REM sleep duration. The fact that the increase was not as great as in the previous study may be due to the large sample studied, which may have minimized the extreme values. This suggests that perhaps a 40–50% increase in REM duration as a result of the auditory stimulus may be closer to reality. The fact that the auditory stimulus protects the animals from the effects of atropine on REM duration, but not on PGO spikes, suggests that the above-mentioned increase of REM sleep may be independent of PGO spike density. In other words, it does not appear as though the PGO spikes play a significant role in maintaining REM sleep duration. The dose-response study of atropine also supports this notion. The results also suggest that the auditory stimulus induces its effects independently of cholinergic mechanisms, although it is conceivable that the auditory stimulus facilitated the release of acetylcholine (ACh) and that such a release may have stimulated some free receptors, which were still available, as a result of the use of low doses of atropine. An alternate possibility to explain the auditory stimulus capacity to by-pass the effects of atropine, is that such stimulus would induce a recruiting of medial reticular neurons which receive direct projections from auditory relay nuclei⁸ and respond to various sensory modalities¹², and thus increase the excitability level of such neurons. Such an excitability level has recently been suggested to be an important possible mechanism for inducing and/or maintaining REM sleep⁹ and is in agreement with the observation that activation of the brain stem reticular formation by direct stimulation, increases the duration of REM sleep periods¹¹. In any case, the results additionally suggest that the maintenance of REM sleep is dependent on multiple mechanisms, the cholinergic being just one of them.

1 Baghdoyan, H.A., Rodrigo-Angulo, M.L., McCarley, R. and Hobson, J.A., Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic

stimulation of three brainstem regions, *Brain Research*, 306 (1984) 39–52.

2 Baghdoyan, H.A., Monaco, A., Rodrigo-Angulo, M.L.,

- Assen, J.F., McCauley, R.W. and Hobson, J.A., Microinjection of neostigmine into the pontine reticular formation of cats enhances desynchronized sleep signs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 231 (1984) 173-180.
- 3 Dement, W., The biological role of REM sleep. In A. Kales (Ed.), *Sleep, Physiology and Pathology*, Lippincott, Philadelphia, PA, 1969, pp. 673-696.
- 4 Drucker-Colin, R., Bernal-Pedraza, J., Fernandez-Cacerino, F. and Morrison, A.R., Increasing PGO spike density by auditory stimulation increases the duration and decreases the latency of rapid eye movement (REM) sleep. *Brain Research*, 278 (1983) 308-312.
- 5 Henriksen, S.J., Jacobs, H.L. and Dement, W., Dependence of REM sleep PGO waves on cholinergic mechanisms. *Brain Research*, 48 (1972) 412-416.
- 6 Hernandez-Peon, R., Chavez-Ibarra, G., Morgane, P. and Timofar, C., Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotional behavior. *Exp. Neurol.*, 8 (1963) 93-111.
- 7 Jacobs, B.L., Henriksen, S.J. and Dement, W., Neurochemical basis of the PGO wave. *Brain Research*, 48 (1972) 406-411.
- 8 Kudo, M., Itoh, K., Kawamura, S. and Mizuno, N., Direct projections to the pretectum and midbrain reticular formation from auditory relay nuclei in the lower brainstem of the cat. *Brain Research*, 288 (1983) 13-19.
- 9 McGinty, D.J. and Drucker-Colin, R., Sleep mechanisms: biology and control of REM sleep. *Int. R. Neurobiol.*, 23 (1982) 391-435.
- 10 Mitler, M. and Dement, W., Cataleptic-like behavior in cats after micro-injections of carbachol in pontine reticular formation. *Brain Research*, 68 (1979) 335-343.
- 11 Monti, J.M., Effect of recurrent stimulation of the brain stem reticular formation on REM sleep in cats. *Exp. Neurol.*, 28 (1970) 484-493.
- 12 Siegel, J.M. and McGinty, D.J., Pontine FTG units. I. Sensory responses. *Sleep Rev.*, 6 (1977) 32.
- 13 Simon, R.P., Gershon, M.D. and Brooks, D.C., The role of the raphe nuclei in the regulation of ponto-geniculo-occipital wave activity. *Brain Research*, 58 (1973) 313-330.
- 14 Velluti, R. and Hernandez-Peon, R., Atropine blockade within a cholinergic hypnogenic circuit. *Exp. Neurol.*, 8 (1963) 20-29.

RAPID EYE MOVEMENT (REM) SLEEP AND PGO SPIKE DENSITY
ARE INCREASED BY SOMATIC STIMULATION

Gloria Arankowsky-Sandoval, Raúl Aguilar-Roblero,
Oscar Próspero-García and René Drucker-Colín

Depto. de Neurociencias, Instituto de Fisiología
Celular, Universidad Nacional Autónoma de México,
04510 México, D.F., México.

All correspondence regarding this manuscript should be
addressed to:

Dr. René Drucker-Colín
Depto. de Neurociencias
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México
04510 México, D.F.
MEXICO

SUMMARY

It has been shown that REM sleep duration and PGD spike density can be enhanced by auditory stimulation. The purpose of this study was to determine whether this effect is restricted to the auditory sensory modality or whether somatic stimulation can produce similar effects. Cats implanted with electrodes for recording the sleep-wake cycle were additionally prepared with clip electrodes placed in the neck for somatic stimulation. Such stimulus was applied at the beginning and throughout each REM sleep period. The effect of this procedure was compared to a similar period when no stimulus was applied. The results showed that somatic stimulation induced a significant increase in REM duration (60.2%) and PGD spike density. Since the effects of somatic stimuli are identical to auditory ones, it is suggested that all sensory modalities may share the property of influencing the mechanisms which regulate the maintenance of REM sleep. Such mechanisms are discussed in terms of an increase in the excitability levels of polymodal medial reticular neurons.

Key words: REM sleep, somatic stimuli, sensory systems.

It has been demonstrated that REM sleep can be enhanced in the normal cat by either electrical or chemical stimulation. For example Monti,^{1,2} showed that recurrent stimulation of the brain stem reticular formation of the cat increased total REM sleep time, as well as mean duration of REM sleep periods. On the other hand, direct application of cholinergic agonists into the pons, enhances both the frequency and the duration of REM sleep periods.^{2,3} Recently we described a novel procedure for increasing REM duration.⁴ Such procedure involves the application of an auditory stimulus prior to and throughout a REM sleep period. Such procedure not only increased REM sleep period duration, but also increased PGO spike density. The increase in REM duration due to auditory stimulation has recently been confirmed in humans.¹³ The purpose of this study was to determine whether the increase in REM duration and PGO spike density is limited to stimulation of the auditory sensory modality, or whether it is shared by other sensory systems, in this case the somatic system.

Seven cats of either sex were used in this study under pentobarbital anesthesia (35 mg/kg). All cats were stereotaxically implanted with conventional electrodes for recording the sleep-wake cycle. These include tripolar electrodes in the lateral geniculate body (LGB), screw electrodes in the parietal bone for recording the EEG and on the external canthus of the eye for recording eye movements (EM) and wire electrodes in the neck muscles for recording

the electromyogram (EMG). In addition, a pair of clip electrodes were inserted into the neck skin for somatic stimulation. All animals were allowed to recover for a minimum of 7 days. Upon recovery the cats were placed inside a cage within a sound attenuated room and the sleep-wake cycle recorded during an eight hour period (10:00 - 18:00) through a Grass Model 79D polygraph. Two procedures for somatic stimulation were tested. In the first, the control and the stimulus alternated with each REM on the same recording session. In the second procedure, the control without stimulus was recorded on one day and the stimulated session was done on the following day. Since the order of stimulus presentation had no effect on the results, the data are grouped as control vs stimulus sessions regardless of procedure. The stimulus, applied at the beginning and throughout each REM sleep period was delivered by a Grass S88 stimulator through a constant current unit. Stimulation parameters chosen on the basis of several pilot experiments were as follows: 100 Hz/sec train of pulses, 5 msec pulse duration, 1 to 4 mA current, total train duration 200 msec. Each train of pulses was applied every 20 seconds (See Fig.1). The somatic stimulus produced in each animal during alert waking, a slight flinch response with no vocalization. A total of 110 REM sleep periods were studied, 55 controls and 55 with somatic stimulation. Since more control periods than stimulated were recorded, the number of control periods was equalized to the maximum number of stimulated ones, using

a table of random numbers. REM sleep period duration and PGO spike density was quantified and significance was determined with Student's t test. It is important to clarify that the somatic stimulus produced in many cases an artifact in the LGB. Therefore, when counting the PGO spikes all those elicited by the somatic stimulus were eliminated.

The somatic stimulus which during waking produced a behavioral response, did not wake the animals when applied just prior to REM onset. Moreover, it did not even produce an observable muscular contraction. The results showed that all REM sleep periods with somatic stimulus were longer in duration, than the non-stimulated control REM sleep periods, providing such comparisons were made within the same cat. The total REM sleep time for the 55 non-stimulated periods was 320.5 min, whereas for the 55 stimulated periods the total was 577 min. This yielded a significant mean difference of 6.20 ± 2.07 vs 10.30 ± 2.55 ($t=9.20$; $P < 0.001$) (See Table I). This represents a 60.2% increase in mean REM sleep episode duration.

The somatic stimulus also produced an increase in PGO spike density (See Fig. 1). The total PGO spikes during the non-stimulated REM sleep periods was 26,106, whereas during the stimulated REM sleep periods the total was 35,051. This also yielded a significant mean difference of 64.6 ± 8.2 vs 68.6 ± 8.6 ($t=2.50$; $P < 0.02$) (See Table I).

INSERT TABLE I AND FIGURE 1 ABOUT HERE

The results of this study show that a somatic stimulus produces a 60% increase in the duration of REM sleep periods. This study therefore, is in agreement with previous reports which have demonstrated in cats^{1,6} and humans¹³ that an auditory stimulus induces an increase in REM sleep duration. Since the increase in REM sleep period duration in this study is very similar to the increase induced by auditory stimulation,^{1,6} it is conceivable that the mechanism which mediates such increase, is common to both sensory modalities. This notion is supported by the fact that both somatic and auditory pathways are responsive during REM sleep.^{7,8} Moreover, it has been demonstrated by anatomical^{9,10} and electrophysiological^{7,14,16} methods that such pathways send projections to reticular neuronal groups, which have been suggested to participate in mechanisms regulating REM sleep.^{3,11} In this respect it is therefore also conceivable that the increase in REM duration by sensory stimulation results in an increase in excitability level of polymodal reticular neurons. Such excitability level has recently been suggested to be an important mechanism for inducing and/or maintaining REM sleep.¹¹

Another important finding of this study is that the PGO spike density, also increases as a result of somatic stimulation. In fact this increase is almost identical to that induced by auditory stimulation.⁶ It should be noted

that the increase of PGO's is independent of the evoked PGO's, because all stimulus related spikes were eliminated from the total PGO sum. Since both somatic¹⁰ and auditory⁸ stimuli are capable of influencing lateral geniculate nucleus activity, it is not surprising to observe an increase in PGO spike density. The question of course, is whether such increase is causally related to the changes in REM duration. Recently, we have shown that the PGO spikes play no such role in REM sleep maintenance,¹ therefore it rather seems that the increase in PGO spike density is merely a consequence of sensory stimulation. It remains to be seen whether specific lesions of the medial reticular neurons can abolish the effects of sensory stimulation on REM sleep duration. Such studies are currently underway in our laboratory.

FIGURE LEGEND

Fig. 1. Representative REM sleep recordings where it can be observed that the somatic stimulus illustrated by the black squares in the lower electrographic recording induces a slight increase in PGO spike density. Also observe that the somatic stimulus which can be seen as an artifact in the EMG recording, produces no observable signs of muscular activity. 1 cm = 50 uv, 1 cm = 4 sec.

TABLE 1. Mean \pm SD of REM sleep duration and PGO spikes in relation to somatic stimulation.

	Non stimulated control (N=55)	Stimulated (N=55)
Total REM Time (min)	320.5	577.03
REM Sleep Duration (min)	6.20 \pm 2.07	10.30 \pm 2.55*
Total PGOs in REM	26,106	35,051
PGOs/min	64.6 \pm 8.2	68.6 \pm 8.6**

* p < 0.001

** p < 0.02

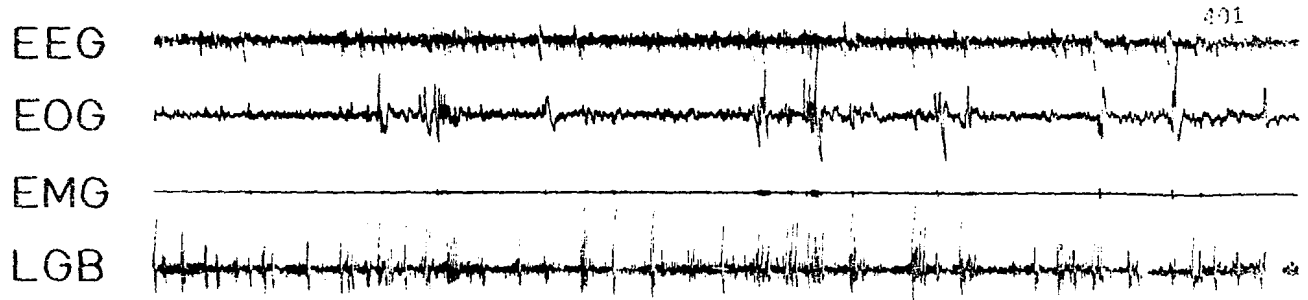
REFERENCES

1. Arankowsky-Sandoval, G., Prospéro-García, D., Aguilar-Roblero, R. and Drucker-Colín, R. Cholinergic reduction of REM sleep duration is reverted by auditory stimulation. Brain Res., 375 (1986) 377-380.
2. Baghdoyan, H., Mónaco, A., Rodrigo-Angulo, M., Assen, J., McCarley, R. and Hobson, A. Microinjection of Neostigmine into the pontine reticular formation of cats enhances desynchronized sleep signs. J. Pharmacol. exp. Ther., 231 (1984) 173-180.
3. Baghdoyan, H., Rodrigo-Angulo, M., McCarley, R. and Hobson, A. Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. Brain Res., 306 (1984) 39-52.
4. Bell, C., Sierra, G., Buendía, N. and Segundo, J. Sensory properties of neurons in the mesencephalic reticular formation. J. Neurophysiol., 27 (1964) 961-977.
5. Chalupa, L., Macadar, A. and Lindsley, D. Response plasticity of lateral geniculate neurons during and after pairing of auditory and visual stimuli. Science, 190 (1975) 29-292.

6. Drucker-Colín, R., Bernal-Pedraza, J., Fernández-Cancino, F. and Morrison, A. Increasing PGO spike density by auditory stimulation increases the duration and decreases the latency of rapid eye movement (REM) sleep. Brain Res., 278 (1983) 308-312.
7. Howe, R., Sterman, M. Somatosensory system evoked potentials during waking behavior and sleep in the cat. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 34 (1973) 605-618.
8. Huttenlocher, P. Effects of state of arousal on click responses in the mesencephalic reticular formation. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 12 (1960) 819-827.
9. Kudo, M., Itoh, K., Kawamura, S. and Mizuno, N. Direct projections to the pretectum and midbrain reticular formation from auditory relay nuclei in the lower brainstem of the cat. Brain Res., 288 (1983) 13-19.
10. Melzack, R., Konrad, K. and Dubrovsky, E. Prolonged changes in visual system activity produced by somatic stimulation. Exp. Neurol., 20 (1968) 443-459.
11. McGinty, D.J. and Drucker-Colín, R.R. Sleep mechanisms: Biology and control of REM sleep, Int. R. Neurobiol. 23 (1982) 391-435.
12. Monti, J.M. Effect of recurrent stimulation of the brain stem reticular formation on REM sleep in cats. Exp. Neurol., 28 (1970) 484-493.
13. Mouze-Amady, M., Sockeel, P. and Leconte, P. Modification of REM sleep behavior by REMs contingent auditory stimulation in man., Physiol. Behav., 37 (1986) In press.

14. Peterson, B., Maunz, R., Pitts, N. and Mackel, R. Patterns of projection and branching of reticulospinal neurons. Exp. Brain Res., 23 (1975) 333-351.
15. Rossi, G.F. and Brodal, A. Terminal distribution of Spinoreticular fibers in the cat. Arch. Neurol. Psychiat., 78 (1957) 439-453.
16. Siegel, J. and McGinty, D. Pontine FTG units. I. Sensory responses. Sleep Res., 6 (1977) 32.

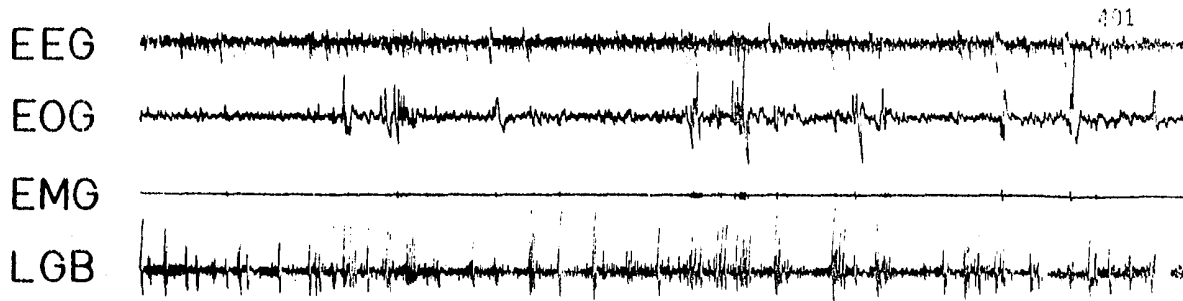
CONTROL



SOMATIC STIMULUS



CONTROL



SOMATIC STIMULUS



DISCUSION

Uno de los aspectos que dificultan más el estudio del sueño es su vulnerabilidad cuando el diseño experimental involucra la administración de fármacos, ya que varios de los parámetros que lo caracterizan resultan afectados. La acción de los antagonistas de acetilcolina ejemplifica este problema, principalmente cuando se aplican de manera sistémica y a dosis elevadas. Por esta razón, decidimos que era importante para este trabajo la realización de una curva dosis-respuesta para el sulfato de atropina en relación a la densidad de espigas PGO y la duración del sueño MOR. Asimismo, fueron seleccionadas dosis más bajas que las reportadas con anterioridad (Jouvet, 1962; Jacobs y col., 1972). con la finalidad de obtener una disminución de las PGOs sin afectar la duración del MOR. Desafortunadamente esto no fue posible porque ambos parámetros disminuyeron significativamente, aún con la dosis más baja de atropina. Sin embargo se pudo observar un efecto anticolinérgico diferencial, que consistió en que las dosis de 0.1 y 0.2 mg/kg produjeron un decremento del 29% en la duración del sueño MOR y un 30% de disminución en la densidad de espigas PGO, en comparación con los controles, mientras que la dosis de 0.3 mg/kg produjo una disminución del 58% en la duración del MOR, sin que hubiese un decremento paralelo en las PGOs. Por otro lado, a las dosis de 0.5 y 0.6 mg/kg, las espigas PGO disminuyeron en un 44%, sin embargo el sueño MOR no resultó nuevamente afectado. Podemos decir, entonces, que esta curva dosis-respuesta resulta importante en el

estudio del sueño ya que demuestra que la participación colinérgica en ambos parámetros puede ser disociada con dosis específicas de atropina. Estos resultados sugieren que la densidad de espigas PGO y la duración del MOR son eventos independientes uno del otro y por lo tanto dichas espigas probablemente no juegan un papel importante en la generación del MOR como ha sido propuesto por Dement (1969).

Por otra parte, en este trabajo se pudo confirmar la observación previa de que la estimulación auditiva durante el sueño MOR incrementa la duración de dicha fase de sueño así como la densidad de espigas PGO (Drucker-Colín y col., 1983). Sin embargo, en este caso, el incremento que se produjo en la duración del MOR fue más pequeño que en el trabajo anterior (50% vs 100%). Este hecho se debe probablemente a las diferencias en número de las muestras estudiadas, que en el presente trabajo fueron mayores, haciéndose así más pequeños los valores extremos. En relación a la densidad de espigas PGO, prácticamente no hubo diferencias entre los resultados de ambos estudios, ya que se encontraron valores muy parecidos cuando se estimuló auditivamente.

Respecto a los efectos de la estimulación auditiva en los animales tratados con atropina, se encontró que ésta seguía produciendo un incremento en la duración del MOR sin observarse un aumento concomitante en la densidad de espigas PGO. Dichos resultados sugieren que el efecto del estímulo no está mediado a través de las PGOs.

Un hecho importante es que el estímulo auditivo no revirtió

la duración del MOR, en el animal atropinizado, a los mismos niveles producidos por el estímulo en el animal normal. Es decir, en el control estimulado, la duración fue de 10.10 min, mientras que para las dosis de .2 y .3 mg/kg de atropina, éstos fueron de 6.27 y 4.47, respectivamente; observándose un aumento menor para la dosis más alta. Este incremento dependiente de la dosis podría explicarse proponiendo que el estímulo auditivo actuara a través de facilitar la liberación de acetilcolina, la cual podría estimular receptores disponibles que no estuvieran bloqueados a consecuencia de las bajas dosis de atropina que se utilizaron.

Por otra parte, en este trabajo se demostró que la capacidad del estímulo auditivo para incrementar la duración del MOR no es exclusiva de dicha vía sensorial. Así, la estimulación somática durante el sueño MOR también produce un aumento significativo de dicha fase de sueño, así como en la densidad de espigas PGO.

Con la finalidad de restringir, al menos parcialmente, el efecto de la estimulación somática, los electrodos fueron implantados en la piel, sin involucrar al músculo. Este hecho, sin embargo, no permite conocer que tipo de receptores cutáneos están participando en la producción de este fenómeno. Sin embargo dado que la inducción de sueño por estimulación de la piel se ha observado con anterioridad (Roitback, 1960) y este efecto está mediado por el Grupo II de fibras cutáneas (Pompeiano y Swett, 1962), es factible que en este trabajo se haya estimulado la misma vía.

Resulta interesante que la estimulación somática, al igual que la auditiva, posean la propiedad de incrementar la duración

del MDR y la densidad de espigas PGO a valores sumamente parecidos. Este hecho sugiere que ambas vías comparten un mecanismo común de acción sobre el MDR que probablemente es independiente de las PGOs, como se demostró en la primera parte de este trabajo. Asimismo, el antecedente de que el cuerpo geniculado lateral es capaz de responder a estímulos auditivos (Chalupa y col., 1975) y somáticos (Melzack y col., 1968) puede explicar el aumento observado en la densidad de espigas PGO.

Ya que los resultados de este trabajo no apoyan la idea de que las PGOs jueguen un papel importante en el aumento del sueño MOR debido a estimulación sensorial, se propone una hipótesis alternativa para explicar este fenómeno. Los antecedentes en la literatura nos llevan a tomar en consideración los siguientes puntos:

- a) La formación reticular pontina está fuertemente ligada a los mecanismos productores del sueño MOR, ya que la estimulación eléctrica (Monti, 1970) o química (Baghdoyan y col., 1984) de dicha estructura aumenta la duración de dicha fase de sueño. Asimismo, se ha observado que la presentación del sueño MOR depende de un nivel crítico de excitabilidad de las neuronas reticulares (McGinty y col., 1982).
- b) Las vías auditiva y somática son capaces de responder a estímulos durante el MOR, aún más, se ha demostrado por estudios anatómicos (Kudo y col., 1983; Peterson y col., 1975) y electrofisiológicos (Siegel y col., 1977; 1979; Bell y col., 1964; Rossi y col., 1957) que dichas vías envían proyecciones a los núcleos de la formación reticular que

están involucrados en los mecanismos de sueño.

Partiendo de esta información, sugerimos que la estimulación sensorial incrementa los niveles de excitabilidad de neuronas polisensoriales de la formación reticular, lo cual da como resultado un aumento en la duración del sueño MOR.

Un diseño experimental que incluya estimulación sensorial en animales con lesión de la formación reticular y el registro de la actividad unitaria de dichas neuronas permitirá la verificación de esta hipótesis.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

REFERENCIAS

- Adey, W., Bors, E. and Porter, R. EEG sleep patterns after high cervical lesions in man. Arch. Neurol. (Chic.) 19: 377-383, 1968.
- Allison, T. Cortical and subcortical evoked responses to central stimuli during wakefulness and sleep. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 18: 131-139, 1965.
- Aston-Jones, G. and Bloom, F.C. Norepinephrine containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. J. Neurosci. 1: 887-900, 1981.
- Baghdoyan, H., Rodrigo-Angulo, M., McCarley, R. and Hobson, A. Site specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. Brain Res. 306: 39-52, 1984.
- Bell, C., Sierra, G., Buendía, N. and Segundo, J. Sensory properties of neurons in the mesencephalic reticular formation. J. Neurophysiol. 27: 961-977, 1964.
- Bizzi, E. and Brooks, D. Functional connections between pontine reticular formation and lateral geniculate nucleus during deep sleep. Arch. Ital. Biol. 101: 666-680, 1963.
- Bonvallet, M., Sigg, B. Etude électrophysiologique des afférences vagales au niveau de leur pénétration dans le bulbe. J. Physiol. 50: 63-74, 1958.

- Bows-Anders, A., Adrien, J. and Roffwarg, H. Ontogenesis of ponto-geniculo-occipital activity in the lateral geniculate nucleus of the kitten. *Exp. Neurol.* 43:242-260, 1974.
- Bowersox, S. and Sterman, M. Changes in circadian sleep and waking patterns after somatosensory deafferentation in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 56: 623-627, 1983.
- Bowker, R., Morrison, A. The startle reflex and PGO spikes. *Brain Res.* 102: 185-190, 1976.
- Brooks, D., Bizzi, E. Brain stem electrical activity during deep sleep. *Arch. Ital. Biol.* 101: 648-665, 1963.
- Brooks, D. Localization of the lateral geniculate nucleus monophasic waves associated with paradoxical sleep in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 23: 123-133, 1967.
- Brooks, D., Gershon, M. An analysis of the effect of reserpine upon ponto-geniculo-occipital wave activity in the cat. *Neuropharmacology* 11: 49-510, 1972.
- Chalupa, L., Macadar, A. and Lindsley, D. Response plasticity of lateral geniculate neurons during and after pairing of auditory and visual stimuli. *Science* 190: 29-292, 1975.
- Dement, W.C. The biological role of REM sleep. In A. Kales (Ed.) *Sleep: Physiology and Pathology*, Lippincott, Philadelphia, PA (1969) 245-265.
- Dement, W., Henriksen, S., Jacobs, B. and Mitler, M. Biogenic amines-phasic events and behavior. in: *Pharmacology and future of man. Proc. 5th. Int. Congr. Pharmacol. San Francisco, 4: 74-79, 1972. Verlag. Karger, Basel.*

- Domino, E., Stowiski, M. Effects of the cholinergic antisynthesis agent HC-3 on the awake sleep cycle of cat. *Psychophysiology* 7: 315-316, 1971.
- Drucker-Colin, R. and Bernal Pedraza, J. Kainic acid lesions of gigantocellular tegmental field (FTG) does not abolish REM sleep. *Brain Res.* 272: 387-391, 1983.
- Drucker-Colin, R., Bernal, J., Fernández, F. y Morrison, A. Increasing PGD spike density by auditory stimulation increases the duration and decreases the latency of rapid eye movement (REM) sleep. *Brain Res.* 278: 308-312, 1983.
- Drucker-Colin, R., Aguilar-Roblero, R., Arankowsky-Sandoval, G. Reevaluation of the hypnogenic factor notion. *En. Sleep: Neurotransmitters and neuromodulators.* Wauquier, A., Radulovacki, H., Monti, J., Gaillard, J. (Eds.) Raven Press, N.Y., USA, 1985.
- Dupuy, J., Coéndet, J. and Jouvet, M. Increase of paradoxical sleep by electrical stimulation within lateral ventricles of rat. *Neurosc. Lett.* 40: 309-33, 1983.
- Flandrin, J.M., Courjon, L., Jeannerod, M. and Schmid, R. Vestibulo-ocular responses during the states of sleep in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 46: 521-5, 1975.
- Gastaut, H., Bert, J. Electroencephalographic detection of sleep induced by repetitive sensory stimuli. In: *On the nature of sleep.* (Woestenhofme, G. and O'Connor, C. eds), p.260-283 Lonan: Churchill, 1961.
- Gassel, M., Marchiafava, P.L. and Pompeiano, O. Phasic changes in muscular activity during desynchronized sleep in unrestrained cat. *Arch. ital. Biol.* 102: 449-470, 1964.

- Hernández-Peón, R., Chávez-Ibarra, F., Morgane, P., Timoniaría, C. Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotional behavior. *Exp. Neurol.* 8: 93-111, 1963.
- Hess, W.R. Hypothalamische adynamie. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 2: 137-147, 1944.
- Heym, J., Trulson, M., Jacobs, B. Raphe unit activity in freely moving cats: effects of phasic auditory and visual stimuli. *Brain Res.* 232: 29-39, 1982.
- Howe, R.C. and Serman, M. Somatosensory system evoked potentials during waking behavior and sleep in the cat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 34: 605-618, 1973.
- Huttenlocher, P. R. Effects of state of arousal on click responses in the mesencephalic reticular formation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 12: 819-827, 1960.
- Jacobs, B.L., Henriksen, S.J., Dement, W.C. Neurochemical basis of the PGO wave. *Brain Res.* 48: 406-411, 1972.
- Jouvet, M. and Michel, F. Declenchement de la "phase paradoxale" du sommeil par stimulation du tronc cerebrale chez le chat intact et mesencephalique chronique. *C.R. Soc. Biol.* 154: 636-641, 1960.
- Jouvet, M., Michel, F. and Courjon, J. Sur un stade d'activité électrique cerebrale rapide au cours du sommeil physiologique, *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, 153: 1024-1028, 1959.
- Jouvet, M. Neurophysiology of the states of sleep. *Physiological Reviews* 47(2): 117-177, 1967.

- Jouvet, M., Moruzzi, G. Ergebnisse der Physiologie 64. Reviews of Physiology. Springer-Verlag, Berlin, 1972.
- Kaufman, S., Morrison, A. Spontaneous and elicited FGD spikes in rats. Brain Res. 214: 61-72, 1981.
- Kostowsky, W., Gumulka, S. Effects of stimulation of raphe nuclei on ponto-geniculo-occipital syndrome evoked by reserpine in cats. Pol. J. Pharmacol. Pharm., 28: 641-645, 1976.
- Kudo, M., Itoh, K., Kawamura, S. and Mizuno, N. Direct projections to the pretectum and midbrain reticular formation from auditory relay nuclei in the lower brainstem of the cat. Brain Res. 288: 13-19, 1983.
- Laguzzi, R., Petitjean, F., Pujol, J. and Jouvet, M. Effets de l'injection intraventriculaire de 6-hydroxydopamine II. Sur le cycle veille-sommeil du chat. Brain Res. 48: 295-310, 1972.
- Magnes, J., Moruzzi, G., Pompeiano, O. Synchronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. Arch. ital. Biol. 99: 33-67, 1961.
- Mancia, M., Meulders, M., Santibañez, H. Synchronisation de l'electroencephalogramme provoquée par la stimulation visuelle répétitive chez le chat "mediapontin pretrigéminale". Arch. int. Physiol. 67: 661-670, 1959.
- Matsuoka, I., Domino, E. Cholinergic modulation of single lateral geniculate neurons in the cat. Neuropharmacology 11: 241-251, 1972.

- McGinty, D.J. and Drucker-Colin, R. Sleep mechanisms: Biology and control of REM sleep. *Int. R. Neurobiol.* 23: 391-435, 1982.
- Mikiten, T., Niebul, P. and Hendley, C. EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharges from the thalamus of the cat. *Fed. Proc.* 20: 327, 1961.
- Melzack, R., Komad, K. and Dubrovsky, B. Prolonged changes in visual system activity produced by somatic stimulation. *Exp. Neurol.* 20: 443-459, 1968.
- Monti, L.M. Effect of recurrent stimulation of the brain stem reticular formation on REM sleep in cats. *Exp. Neurol.* 28: 484-493, 1970.
- Morrison, A., Bowker, R. The biological significance of FGO spikes in the sleeping cat. *Acta Neurobiol. Exp.* 35: 321-340, 1975.
- Peterson, B., Maunz, R., Pitts, N. and Mackel, R. Patterns of projection and branching of reticulospinal neurons. *Exp. Brain. Res.* 23: 333-351, 1975.
- Phillis, J., Tebesis, A., York, D. A study of cholinocceptive cells in the lateral geniculate nucleus. *J. Physiol.* 192: 695-713, 1967.
- Pompeiano, O. and Swett, J. EEG and behavioral manifestations of sleep induced by cutaneous nerve stimulation in normal cats. *Arch. Ital. Biol.* 100: 343-380, 1962.

- Roitback, A. Electrical phenomena in the cerebral cortex during the extinction of orientation and conditional reflexes. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol., Suppl.* 13: 91-100, 1960.
- Rossi, G. and Brodal, A. Terminal distribution of spinoreticular fibers in the cat. *Arch. Neurol. Psychiat.* 78: 439-453, 1957.
- Rossi, G., Favale, T., Hara, A., Giussani and Sacco, G. Researches on the nervous mechanisms underlying deep sleep in the cat. *Arch. Ital. Biol.* 99: 270-292, 1961.
- Saito, H., Sakai, K. and Jouvet, M. Discharge patterns of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. *Brain Res.* 134: 59-72, 1977.
- Sakai, K., Jouvet, M. Brain stem FGD on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* 194: 500-505, 1980.
- Siegel, J. and McGinty, D. Pontine FTG units. I. Sensory responses. *Sleep Res.* 6: 32, 1977.
- Siegel, J. Behavioral functions of the reticular formation. *Brain Res.* 1: 69-105, 1979.
- Silberman, E., Vivaldi, E., Garfield, J., McCarley, R. and Hobson, A. Carbachol triggering of desynchronized sleep phenomena: Enhancement via small volume infusions. *Brain Res.* 191: 215-224, 1980.
- Simon, R., Gershon, M., Brooks, D. The role of the raphe nuclei in the regulation of ponto-geniculo-occipital wave activity. *Brain. Res.* 58: 313-330, 1973.

- Steinfels, G., Heym, J., Strecker, R. and Jacobs, B. Response of dopaminergic neurons in cat to auditory stimuli presented across the sleep-waking cycle. Brain Res. 277: 150-154, 1983.
- Stern, W., Morgane, P. Serotonin and EEG spiking activity in the lateral geniculate nucleus. Reprinted from the Proceedings 80th. Annual Convention, APA, 1972.
- Sterman, M. and Clemente, C. Cortical recruitment and behavioral sleep induced by basal forebrain stimulation. Fed. Proc. 20: 334, 1961.
- Tauber, E.S., Handelman, G., Handelman, R. and Weitzman, E. Vestibular stimulation during sleep in young adults. Arch. Neurol. 27: 221-228, 1972.
- Velluti, R. and Hernández-Peón, R. Atropine blockade within a cholinergic hypnogenic circuit. Exp. Neurol. 8: 20-29, 1963.
- Vogel, G.W. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat. 7: 343-349, 1983.
- Winters, W., Mori, K., Spooner, C. and Kado, R. Correlation of reticular and cochlear multiple unit activity with auditory evoked responses during wakefulness and sleep. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 23: 539-545, 1967.