

28  
237



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

MICROINYECCIONES DE LIQUIDO CEFALORRA-  
QUIDEO DE GATO PRIVADO DE SUEÑO PARA-  
DOJICO. EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD PGO-  
RESERPINA.

T E S I S  
Q U E P R E S E N T A :  
HOMERO WENCES ROMAN  
PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G O

**TESIS CON  
FOLIA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1989



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.

## INDICE

	pag.
A) RESUMEN _____	1
B) INTRODUCCION	
Generalidades del ciclo sueño-vigilia _____	2
Vigilia _____	3
Sueño _____	5
Sueño de ondas lentas _____	5
Sueño paradójico _____	7
Posibles funciones del SP _____	10
Actividad ponto-geniculo-occipital _____	11
Aspectos cuantitativos de la actividad PGO _____	13
Actividad PGO y potenciales de movimiento ocular _____	14
Generación de la actividad PGO _____	15
Actividad PGO-reserpina _____	16
Factores de sueño _____	19
Factores de sueño del cerebro _____	19
Factor S _____	20
Péptido inductor de Sueño Delta _____	21
Sustancia promotora de sueño _____	22
Polipeptido factor de Sueño MOR _____	24
C) PROBLEMA _____	28
D) HIPÓTESIS _____	29
E) OBJETIVOS _____	29
F) MATERIAL Y METODOS _____	30
G) RESULTADOS	
Grupo I Microinyecciones de LCR en III Vent. _____	45
Grupo II Microinyecciones de LCR en FTG _____	54
Grupo III Microinyecciones de LCR en Area X _____	64
Resumen de resultados _____	69
H) DISCUSION Y CONCLUSIONES _____	71
I) REFERENCIAS _____	75

## A) RESUMEN

La actividad ponto-geniculo-occipital (PGO) es un potencial de campo que se presenta en el sueño paradójico (SP) y puede ser inducido en forma continua por la reserpina; ésta actividad se ha relacionado con los movimientos oculares que ocurren en el SP y con el mecanismo que dispara a esta fase de sueño. Recientemente se ha propuesto la existencia de un factor inductor de SP, que se acumula en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de animales privados de esta fase de sueño; al inyectar este factor en el ventrículo cerebral de un animal receptor no privado, se observa un incremento en la cantidad de SP. El presente estudio tiene dos objetivos: 1) Valorar si el factor de SP del LCR modifica la actividad PGO-reserpina al inyectarlo en el ventrículo y 2) Determinar cuál es su posible sitio de acción. En este punto comparamos los efectos inducidos sobre la actividad PGO por microinyecciones en dos de las regiones propuestas como generadores de estas espigas: El Área X (AX) y el campo tegmental gigante-celular (FTG). Utilizamos 22 gatos receptores y 6 donadores de LCR. Los donadores fueron sometidos a cirugía estereotáxica para la implantación de cánulas de succión en el III y IV ventrículos y privados de SP por el método de la isla. Después de la privación se obtuvo el líquido cefalorraquídeo (LCR-p) y se inyectó a los gatos receptores en experimento agudo, reserpinizados, anestesiados y curarizados. Se tomaron registros control preinyección continuos, promediando el número de espigas PGO cada 10 minutos, durante una hora y media y después de inyectar se registró, promediando cada 10 minutos, durante 2 horas y media. Al terminar el experimento los animales fueron sacrificados y perfundidos, para hacer el análisis histológico del sitio de inyección. La inyección de LCR-p en el tercer ventrículo (100 ul) provocó un aumento del 46% en la frecuencia de las ondas PGO; en forma similar, la inyección de LCR-p en el FTG (2 ul) provocó un aumento en la frecuencia de las ondas PGO,

de un 35%. Con las inyecciones en el área X no encontramos modificaciones en la frecuencia de las espigas PGD, ocurriendo lo mismo al inyectar LCR de animales no privados de sueño (LCR-no p) pero que se mantuvieron en condiciones de stress y humedad similares. Nuestros resultados apoyan la existencia de un factor inductor de SP en el LCR de animales privados de esa fase de sueño y sugieren que su sitio de acción pudiera ser o estar relacionado con el FTG, por lo menos en relación a los cambios inducidos sobre la actividad PGD, ya que los efectos observados al inyectar en el III ventrículo se reproducen con la inyección en el FTG.

## B) INTRODUCCION

### GENERALIDADES DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA.

El sueño y la vigilia forman parte de un ciclo circadiano en el que participa todo el organismo. Mediante el registro electroencefalográfico (EEG), electromiográfico (EMG) y electrooculográfico (EOG), es posible observar dos tipos principales de sueño: El sueño de ondas lentas (SOL) y el sueño con movimientos oculares rápidos, llamado también sueño MOR, sueño romboencefálico o sueño paradójico (SP) (Aserinsky y Kleitman, 1953).

Durante el sueño MOR se presenta la actividad onírica que está acompañada por movimientos oculares rápidos, atonia muscular y la actividad ponto-geniculo-occipital (PGO); estos potenciales tienen una morfología similar a una espiga y son la primera manifestación del sueño paradójico, por lo que se ha propuesto que son un indicador del mecanismo fásico relacionado con la génesis de esa fase del sueño (Jouvet, 1972). Esta actividad se propaga hacia diferentes estructuras corticales y subcorticales

de los sistemas oculomotor, visual y auditivo, entre otros.

Evidencias anatómicas y fisiológicas sugieren que las regiones involucradas en los mecanismos ejecutivos de la actividad PGO se encuentran localizadas en el tegmento pontino, entre ellas la región dorsolateral de la formación reticular pontomesencefálica, denominada por Sakai como Area X (AX) (1976, 1980, 1985) y el campo tegmental gigantocelular (FTG), propuesto por Hobson (1974, 1980).

El ciclo sueño-vigilia es un fenómeno biológico que se manifiesta claramente en las especies más evolucionadas del reino animal, observándose patrones electrofisiológicos y de comportamiento diferentes, de acuerdo al grupo evolutivo de que se trate (Monnier, 1980). Debido a que las fases de SOL y SP son fácilmente distinguibles en el gato (Felis catus), este es uno de los animales más usados en la investigación del sueño; en condiciones de laboratorio la cantidad de sueño en esta especie es de aproximadamente 16 horas, con predominancia de sueño diurno. La actividad electroencefalográfica muestra, en 24 horas, los siguientes valores: tiempo en vigilia 31% y tiempo empleado en sueño 69%, subdividido éste en SOL-55% y SP-14%. La distribución temporal del patrón conductual del estado de vigilia en el gato comprende: el 10% del tiempo para vigilia activa, el 31% para vigilia pasiva y 10% para las funciones vitales, el resto (49%) está ocupado en el sueño (Sternan, 1965).

#### VIGILIA

En el hombre, el patrón electroencefalográfico de la vigilia se caracteriza por la presencia de actividad beta de bajo voltaje y de frecuencias mezcladas (18-30 ciclos por segundo). En el gato se presenta una actividad de bajo voltaje (inferior a 50  $\mu$ V) y rápida (entre 20 y 39 cps), aunque en estructuras específicas como la porción rostral del hipocampo se manifiesta una actividad más lenta, denominada ritmo theta (5 a 7 cps). El registro eléctrico del tono muscular durante la vigilia con atención es

muy amplio y conductualmente existen manifestaciones autónomas o vegetativas características, como relajación pupilar y constricción de las membranas nictitantes (Jouvet, 1967).

Hay evidencias que indican que la formación reticular del tallo cerebral es importante en el control de la vigilia; esta estructura está situada en la parte media del tallo cerebral y está formada por una red de fibras nerviosas intermezcladas con neuronas, a veces agrupadas en núcleos. Esta masa compleja se extiende desde la parte anterior de la médula espinal hasta el diencefalo. En 1949, Moruzzi y Magoun estimulando eléctricamente la formación reticular mesencefálica con altas frecuencias (100 a 300 pulsos por segundo) provocaron una reacción de despertar en gatos dormidos y anestesiados; también observaron que la lesión de esta región suprime la vigilia. Con base en estos resultados propusieron que el despertar se debe a una influencia activadora ascendente que estimula la corteza cerebral, originándose así el concepto de sistema reticular activador ascendente.

Por otro lado, Moruzzi en 1969 realizó secciones a nivel ponto-mesencefálico, encontrando una activación momentánea de la corteza por estímulos olfatorios o por estimulación de la formación reticular, sin embargo, no observó activación espontánea. Esto llevó a la proposición de un mecanismo mesencefálico de activación fásica, responsable del despertar momentáneo.

La adrenalina, dopamina y acetilcolina son los neurotransmisores que se han involucrado en la vigilia.

Cordeau (1963) encontró que la aplicación tópica de adrenalina en el tallo cerebral de gatos dormidos produce una desincronización eléctrica, acompañada de signos conductuales de despertar.

La administración de DOPA, precursor de la dopamina, provoca un aumento en la cantidad de vigilia (Wyatt, 1972).

La activación eléctrica cortical se bloquea con la aplicación de atropina, antagonista de la acetilcolina (Krnjevic, 1965). La

atropina provoca, al igual que la dopamina, una disociación entre los signos conductuales y eléctricos de la vigilia. Krnjevic ha encontrado fibras colinérgicas difusas que inervan las capas profundas de la corteza cerebral, haciendo posible que el efecto activador de la acetilcolina dependa de la liberación de la misma a nivel cortical; se ha propuesto así un mecanismo colinérgico responsable de la activación local de la corteza.

#### SUEÑO

Moruzzi y Magoun (1949) propusieron al sueño como resultado de una disminución de la vigilia, producto de la fatiga del sistema reticular activador ascendente, es decir, un proceso pasivo. Contrariamente, una línea de investigación que comenzó con los trabajos de Pieron (1912), quien postuló que el inicio del sueño podría deberse a la acumulación de factores humorales o "hipnotoxinas", producidas durante la vigilia y continuó con las investigaciones de Hess (1944) sobre la producción de sueño por estimulación del hipotálamo posterior y con los descubrimientos de Aserinsky (1953) de que las fases de SOL son seguidas por actividad electroencefalográfica rápida y de bajo voltaje, movimientos oculares rápidos y atonía muscular, se ha concluido que el sueño es un proceso activo de interacción dinámica entre diversas áreas corticales y subcorticales, aunque hasta el momento no existe un cuerpo de conocimientos lo bastante sólido como para elaborar una teoría del sueño.

#### SUEÑO DE ONDAS LENTAS.

Desde los trabajos de Berger (1929), se han descrito en el hombre cambios electroencefalográficos que permiten distinguir el SOL y subdividirlo en las fases I, II, III y IV. En el gato, el SOL se caracteriza por una actividad cortical constituida por husos de sueño, con una frecuencia que varía entre 12 y 18 cps (Jouvet, 1962) y de alto voltaje (100 a 200  $\mu$ V), predominantemente en las regiones frontales; estos husos se encuentran entremezclados con

actividad lenta y de alto voltaje (2 a 4 cps y 150 a 250 uV), que se vuelve más frecuente conforme avanza el sueño. El SOL del gato se divide en dos fases, en la fase I aparecen husos de sueño mezclados con ondas lentas y el tono muscular se estabiliza y disminuye con relación al de vigilia; la fase II se caracteriza por actividad delta (0.5-3.5 cps) de alto voltaje, que a veces alterna con husos de sueño. En ocasiones, durante esta fase se observa la aparición de fenómenos fásicos (actividad PGO), principalmente unos cuantos segundos antes de la instalación del SP. A estos períodos se les ha dado el nombre de SPOL (Sommeil Phasiqué a Ondes Lentas) (Thomas y Benoit, 1967).

En esta fase el gato adopta una postura típica, semejante a una esfinge, recargado sobre el vientre y patas, con la cabeza levantada y los ojos cerrados; conforme avanza en SOL la cabeza desciende progresivamente hasta tocar el suelo (Jouvet, 1962).

Las funciones vegetativas durante el SOL presentan ligeras variaciones: la temperatura corporal disminuye ligeramente, la frecuencia cardiaca se reduce y la respiración se vuelve más lenta y regular, la pupila se contrae (llegando a medir 1 mm en el gato) y las membranas nictitantes se relajan totalmente (Jouvet, 1962).

La región localizada en la línea media del tallo cerebral, específicamente los núcleos del rafe, parecen desempeñar un papel decisivo en la instalación del sueño lento; la lesión de esta región produce un animal insomne (Jouvet, 1972). Se propone que la activación de los núcleos del rafe inhibe el efecto del despertar producido por el sistema reticular activador, permitiéndole al tálamo medial inducir los husos y ondas corticales. Las lesiones parciales ó totales del sistema del rafe (serotonérgico) conducen a una disminución del sueño estrechamente relacionada con bajos niveles de serotonina y ambos aspectos se relacionan con el tamaño de la lesión. La administración de reserpina (depletor de catecolaminas y serotonina) suprime el sueño lento y el SP durante 12 a 14 horas;

la inyección secundaria de 5-Hidroxitriptofano (precursor de 5-HT) restaura el nivel de serotonina cerebral, provocando la reaparición inmediata del SOL, mientras que la inyección de dopamina posterior a la reserpina, conduce a la reaparición del SP. Se deduce de lo anterior que la serotonina está involucrada en el SOL mientras que el SP parece depender de mecanismos catecolaminérgicos (Matsumoto y Jouvet, 1964).

#### SUEÑO PARADOJICO.

Esta fase del sueño se ha asociado al desarrollo ontogenético del individuo, ya que los animales jóvenes permanecen en esta fase mucho más tiempo que los adultos; el hombre adulto pasa en SP el 20% del tiempo total de sueño y a medida que avanza la edad el SP disminuye ligeramente hasta alcanzar un 15% en la senectud. Los niños de más de 5 años tienen cifras de SP semejantes a las del adulto, pero los niños de 2 a 4 años duermen en SP de 25 a 30% y los recién nacidos pasan en SP más del 50 % de su sueño (Dreyfus-Brisac, 1964).

Aserinsky y Kleitman, en 1953, describieron la aparición de periodos de movimientos oculares rápidos a partir del estudio del sueño en niños; al realizar observaciones en adultos, aunadas al registro poligráfico, observaron que estos periodos aparecen de manera cíclica 4 a 5 veces durante la noche y se acompañan de una actividad electroencefalográfica rápida y de bajo voltaje. Señalaron también que cuando un sujeto era despertado durante esta fase reportaba estar soñando, mientras que si se le despertaba en otras etapas no refería ensoñaciones. Más tarde, Dement y Kleitman (1957) corroboraron la relación entre la aparición de movimientos oculares rápidos y la actividad onírica.

Jouvet (1959) demostró que el SP en el gato se acompaña de una disminución del tono de los músculos antigravitatorios, interrumpida por contracciones fásicas de corta duración; estas sacudidas mioclónicas se asocian temporalmente a los movimientos oculares.

La presentación del SP va precedida normalmente de un período

de SDL, con excepción de los recién nacidos, personas privadas de sueño y pacientes narcolepticos, en quienes puede presentarse inmediatamente después de un episodio de vigilia (Jouvet, 1959).

En el gato, el SP se caracteriza por la presencia de actividad electrocortical de frecuencia rápida (mas de 20 Hz), por movimientos oculares rápidos (60 a 70 por minuto) que pueden ser horizontales, verticales u oblicuos y que se acompañan de miosis acentuada, interrumpida en ocasiones por midriasis; además aparecen movimientos de las orejas, vibrisas y extremidades y la respiración se vuelve irregular y con periodos cortos de apnea. El SP ocupa del 15 al 30 % del tiempo total de registro (Jouvet, 1965).

En relación al sistema vegetativo se ha observado que la frecuencia cardiaca y la respiración se vuelven irregulares y con tendencia al incremento, principalmente al inicio y al final del episodio y en relación con los trenes de MOR (Gassel, 1964; Aserinsky, 1965). La presión arterial en el gato disminuye entre 15 y 30 % y se vuelve irregular, con fluctuaciones que coinciden también con los trenes de MOR. Hay un aumento del 30 al 50 % del flujo sanguíneo cerebral, debido tal vez a una vasodilatación cerebral o a un aumento en el metabolismo del cerebro (Kanzow, 1962). La temperatura corporal desciende aun más que durante el SDL, mientras que la temperatura cerebral se eleva.

De acuerdo a estudios farmacológicos y neurofisiológicos, el SP parece ser el resultado de una sucesión de eventos que incluyen mecanismos serotoninérgicos preparativos y mecanismos catecolaminérgicos y colinérgicos de instalación y mantenimiento. Jouvet propone que las neuronas serotoninérgicas del rafe anterior están involucradas en el SDL, mientras que porciones mas posteriores (rafe del puente y rafe magnus) pueden tener un papel en la instalación del SP, cuyos mecanismos de ejecución estarían localizados en la región dorsolateral del puente, específicamente en el núcleo Locus coeruleus (LC) (Jouvet, 1972).

Hobson y Mc Carley (1975; Vivaldi y col., 1980) proponen a la

formación reticular pontina como sitio involucrado en el control del sueño MOR, describiendo una población de neuronas que descargan con muy baja frecuencia durante la vigilia y SOL, mientras que durante el SP aumentan su frecuencia de descarga, sugiriendo que estas células tienen una función ejecutiva en el control del sueño paradójico.

Por otro lado, se ha propuesto que la región dorsolateral del tegmento pontomesencefálico, especialmente algunos núcleos adyacentes al LC, participan en la generación de por lo menos tres manifestaciones del SP: La atonía muscular, generada por las células del peri LC alfa; las espigas PGO, por las células del Area X y del núcleo parabraquial lateral (Pbl) y las irregularidades cardiorrespiratorias, por las células del complejo parabraquial (Sakai y Jouvet, 1980; Sakai, 1985).

Se ha mostrado que la actividad unitaria de las neuronas del cafe se modifica en asociación con las fases del ciclo sueño-vigilia (Mc Ginty y Harper, 1972); la liberación de serotonina también se ve modificada (Fuizillout, 1973) y se ha mostrado (Cespuglio, 1981) que las neuronas serotoninérgicas están muy activas durante el despertar, disminuyendo su actividad durante el sueño de ondas lentas y aún más durante el SP. Jouvet (1972) sugirió que la serotonina liberada como neurotransmisor durante la vigilia puede estar actuando también como una neurohormona en el sueño, induciendo la síntesis o la liberación de un factor hipnagénico responsable del SP.

Bobilier (1974) propone que el SP está asociado con un aumento de la síntesis de proteínas, ya que encontró en ratas privadas de sueño MOR, una disminución en dicha síntesis. Drucker-Colín (1977) ha observado bloqueo del rebote compensatorio de SP provocado por la administración crónica de anfetaminas, después de la administración de antibióticos inhibidores de la síntesis protéica (cloramfenicol), dando soporte a la noción de que el nivel protéico cerebral participa en la regulación del SP.

## POSIBLES FUNCIONES DEL SUEÑO PARADOJICO.

Las posibles funciones del sueño paradójico, compiladas por Hartmann (1967) son:

- "Limpieza" del sistema nervioso central de un metabolito endógeno, producto de su funcionamiento (Dement, 1964).

- Proveer a la corteza cerebral de una fuente de estimulación endógena, la cual sería necesaria para su desarrollo (Roffwarg, 1966).

- Reorganización de los patrones de descarga en las redes neuronales del cerebro, los que se desorganizarían durante el SOL (Weiss, 1966).

- Recuperación de la "privación sensorial" que ocurre durante el SOL, mecanismo homeostático que reajustaría los niveles necesarios de excitación (Ephron, 1965). Esta teoría es ampliada por Moruzzi (1972) quien considera al SP como un acto homeostático instintivo consecuencia de la desactivación reticular.

- Facilitador de los despertares esporádicos durante el sueño para reorientarse con respecto al medio (Snyder, 1966; Weiss, 1966).

- Descartar información innecesaria acumulada durante el día, limpiando los circuitos de la memoria para facilitar la entrada de nueva información (Newman y Evans, 1965).

- Transferencia de memorias de corto a largo plazo (Greenberg y Leiderman, 1964).

- Liberación de tendencias instintivas en una situación benigna, sin tono muscular (Fisher, 1965).

- Más recientemente, se ha visto una relación entre el SP y el incremento de la síntesis de proteínas (Oswald, 1969).

### ACTIVIDAD PONTO-GENICULO-OCCIPITAL (PGO)

En el SP se presentan dos tipos de fenómenos: los tónicos, que se observan de manera continua y los fásicos, que se producen en episodios cortos y en forma repetitiva.

Los fenómenos tónicos son la atonia muscular, la actividad eléctrica rápida y de bajo voltaje (semejante a la activación que acompaña al estado de atención) y la aparición de la actividad theta continua en las porciones dorsal y ventral del hipocampo (5 a 7 cps).

Los fenómenos fásicos son los MOR, las irregularidades cardiorrespiratorias, las sacudidas mioclónicas y la actividad PGO.

Los MOR tienen una frecuencia de 60 a 70 por min. y difieren de los movimientos oculares de vigilia por su distribución temporal y su patrón de ocurrencia (Jeannerod y Muret, 1963); pueden presentarse en forma aislada pero generalmente es en forma de salvas de 5 a 10 movimientos, llegándose a observar algunas salvas hasta de 50 movimientos.

La actividad PGO es una de las manifestaciones fásicas que caracterizan al SP.

Jouvet y Michel (1959), registraron la actividad de la formación reticular pontina durante el SP y observaron potenciales monofásicos de alto voltaje (200-300 uV) y de larga duración (100 milisegundos), que pueden ocurrir aisladamente o en grupos; Mikiten (1961) los registró en el núcleo geniculado lateral (NGL) y Muret (1963) en la corteza occipital. Debido a los sitios donde fueron registrados inicialmente se le llamó actividad fásica ponto-geniculo-occipital (PGO) (Jeannerod, 1965); posteriormente se ha registrado, con menor amplitud, en los núcleos del III, IV, VI y VII pares craneales (Costin y Hafemann, 1970), en el cerebelo (Jeannerod, 1965), en la corteza auditiva y el núcleo del V par craneal (Roffwarg, 1979) y en estructuras talámicas como el núcleo pulvinar, habénula y los núcleos ventral posteromedial, central, lateral y posterolateral. (Hobson, 1964).

Son muchas las estructuras influenciadas por la actividad PGO; en el NGL y en la corteza visual la mayoría de las células se activan durante el primer componente del potencial (Valleala, 1967), en el tálamo y en áreas de asociación el 60 % de las neuronas se ven facilitadas o inhibidas durante la actividad PGO (Laurent y col., 1974).

Aún cuando se sabe que todos los vertebrados homeotermos estudiados presentan las dos fases del sueño (Melesio y Ayala 1983), las espigas PGO han sido poco estudiadas desde el punto de vista filogenético; si bien el gato es el animal donde más se ha estudiado este potencial, conociéndose así algunas de sus características, también ha sido registrado en la rata, el mono y el hombre.

En los primates, se ha visto una actividad similar a las PGO en el NGL (Feriachio, 1973) de babuinos, pero no claramente en macacos. Las ondas PGO probablemente están confinadas a la corteza visual primaria y por eso se dificulta su 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, 1975). Estudios en humanos (Mc Carley y cols., 1983) muestran la presencia de potenciales PGO corticales que preceden a los movimientos rápidos de los ojos durante el SP; estos potenciales son similares a los presentes en animales, lo que sugiere que la actividad PGO existe en el hombre y puede estar funcionalmente relacionada con los potenciales de movimiento ocular. En ratas (Cespuglio, 1977) y cobayos (Pellet, 1974) también se han registrado potenciales PGO, observándose que cada especie tiene patrones y frecuencias diferentes.

#### ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LA ACTIVIDAD PGO.

Normalmente la actividad PGO no ocurre durante la vigilia, pero puede presentarse periódicamente durante la fase 2 del SOL (fase SPOL) (Thomas y Benoit, 1967), en forma aislada y con una frecuencia promedio de 10 potenciales por minuto. La actividad PGO precede a la desincronización cortical y a la atonía muscular del SP por 30 a 60 segundos; durante el SP aumenta su frecuencia a 70-90 potenciales por minuto, pudiendo presentarse aislados (23% del número total), en pares (24 %) o en calvas de más de 5 potenciales separados por intervalos de 100 msec o menos (53%). 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.

Se ha estudiado el desarrollo ontogenético de las espigas PGO en gatos recién nacidos (Bowe-Anders, 1974), observándose en el NGL a la tercera semana de vida postnatal, alcanzando una semana después la maduración casi completa en términos de frecuencia, amplitud, duración y forma de la onda.

La tercera semana de vida en el gato ha sido descrita (Jouvet, 1970) como un período crítico en el cual el ciclo sueño-vigilia llega a ser semejante al del adulto, siendo el número de potenciales PGO en 24 horas muy constante (13,000  $\pm$  1,500). El número de potenciales PGO por día parece estar controlado por mecanismos de regulación de largo plazo, pues cuando un animal es privado de SP durante 3 días, aparecen algunos potenciales durante el SOL (700 cada 24 horas) y durante el rebote de SP de los dos días siguientes a la privación las espigas PGO aparecen durante el SOL y el SP con una mayor frecuencia, recuperándose el déficit en un 75-90 % del total diario de 13,000 potenciales (Dusan-Peyrethon, 1967). En el gato las espigas PGO son un signo útil y temprano de la iniciación del mecanismo que conduce al SP, indicando que el organismo está entrando a una fase durante la cual la mayoría de las estructuras cerebrales experimentan un cambio en su actividad.

#### ACTIVIDAD PGO Y POTENCIALES DE MOVIMIENTO OCULAR.

Durante la vigilia se presenta una actividad similar a las espigas PGO, acompañando a los movimientos oculares de observación. Brooks y Gershon (1971) encontraron diferencias fundamentales entre ambas, ya que el voltaje de las espigas corticales de la vigilia está modulado por la intensidad de la iluminación, pudiendo incluso desaparecer en la oscuridad, mientras que durante el SP el voltaje de las espigas PGO no se modifica con cambios en la intensidad de la iluminación y permanecen en la oscuridad. Las espigas registradas en la corteza, tanto en vigilia como en SP, tienen una deflexión positiva que dura 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 a 20 milisegundos, que nunca aparece en las espigas corticales de vigilia; éstas, desaparecen permanentemente después de la sección bilateral del nervio óptico, conservándose los movimientos oculares, mientras que las espigas del SP no se modifican. La extracción de los globos oculares (Michel, 1964), la lesión de la retina (Berlucchi, 1964) o la curarización (Jouvet, 1965) provocan la desaparición de las espigas de vigilia (Jeannerod, 1965) pero no afectan esta actividad durante el SP. De acuerdo a esto, Brooks y Gershon 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 espigas del SP reflejan un fenómeno diferente.

La actividad PGO está directamente relacionada con los movimientos oculares rápidos del SP; cada potencial PGO de la formación reticular pontina corresponde con una contracción física del músculo lateralrecto del globo ocular (Michel, 1964). Los potenciales PGO de la corteza visual o del NGL no dependen de los mecanismos musculares del movimiento ocular, ya que persisten durante varios días después de la enucleación de los globos

oculares (Jeannerod, 1965); además, las espigas PGO del NGL preceden o coinciden con el movimiento ocular (Kiyono y Jeannerod, 1967).

#### GENERACION DE LA ACTIVIDAD PGO.

Se tienen evidencias experimentales que indican que la generación de la actividad PGO depende de un marcapaso pontino: las PGO pontinas persisten durante el SP en gatos pontinos crónicos (Jouvet, 1962); la sección prepontina dorsal del tallo cerebral suprime las espigas PGO del NGL pero no las del puente (Hobson, 1965); la estimulación de la formación reticular pontina durante el sueño MOR dispara las espigas PGO en el NGL, mientras que la misma estimulación no es efectiva durante el SOL ni en la vigilia (Brooks, 1963). Las espigas PGO evocadas en el NGL son respuestas de tipo "todo o nada", según la intensidad del estímulo (Malcolm, 1970); transecciones de tallo cerebral, a diferentes niveles del eje anteroposterior (Bello y cols., 1987), suprimen las espigas PGO, ya sea del NGL o del puente a nivel del núcleo abducens (VI par), según el nivel del corte.

Aún cuando se considera que en el puente se localiza el sitio generador de la actividad PGO, existen controversias en cuanto al lugar exacto, ya que han sido propuestos diferentes núcleos de la formación reticular pontina como posibles generadores. Hobson (1974) reporta que las neuronas del FTG presentan descargas en forma de salvas, que preceden o son simultáneas a los potenciales PGO del NGL, proponiendo a estas células como generadores de la actividad PGO; sugiere además, que estas células se encuentran inhibidas por impulsos del LC durante la vigilia y el SOL, produciéndose una desinhibición liberadora de la descarga del FTG, antes y durante el SP, que da lugar a la aparición de la actividad PGO y a otras manifestaciones del SP.

Sakai (1976, 1985) ha postulado que lesiones de la formación reticular pontomesencefálica suprimen completamente la actividad PGO del NGL, mientras que la estimulación eléctrica de esta misma

Área provoca la aparición de potenciales de campo en el NGL equivalentes a las espigas PGO y con una latencia de 5 a 9 msec. A esta región, que propone como generadora de las espigas PGO, la denomina Área X (AX) y se encuentra localizada en la parte caudal del mesencéfalo, en la región dorsolateral del brachium conjunctivum y ventral al núcleo cuneiforme.

#### ACTIVIDAD PGO-RESERPINA.

En experimentos neurofarmacológicos se ha observado que la serotonina, noradrenalina y acetilcolina tienen una estrecha relación con la actividad PGO, pudiendo ser modificada por algunas sustancias que alteran los niveles de estos neurotransmisores. La administración sistémica de reserpina (0.5 a 1.0 mg/Kg ip), que depleta las terminales de aminas biogénicas, provoca la aparición continua de espigas eléctricas similares a los potenciales PGO del sueño MOR. Con base en estudios de lesión se ha propuesto que dependen del mismo generador pontino (Jouvet, 1972).

El estudio (Delorme, 1965; Jeannerod, 1965; Brooks, 1971) de la actividad PGO provocada por la reserpina (PGO-r) ha mostrado que tiene varios aspectos en común con la actividad PGO del sueño (PGO-s): Aparecen concomitantemente con las contracciones fásicas de los músculos extrínsecos del globo ocular, con los movimientos oculares y se les puede registrar en las mismas regiones cerebrales. Aunque las espigas PGO-r tienen muchas características en común con las espigas PGO-s, ocurren en diferentes contextos de la actividad metabólica del sistema nervioso central; la diferencia más importante es que las espigas PGO-r aparecen de manera continua durante la vigilia (ya que la reserpina produce insomnio) y en los periodos de sincronización, presentándose durante varias horas. Por otro lado, la actividad PGO-r cortical o del NGL no se suprime al efectuar una sección retropontina ni con la destrucción total de los núcleos vestibulares o del rafe; en cambio, sí desaparece al efectuar sec-

ciones prepontinas o al destruir el tegmento dorsal pontino, ocurriendo lo mismo con las PGO-s, por lo que se ha propuesto que ambas tienen el mismo generador pontino.

Laurent y col. (1972) han intentado definir más precisamente la localización del generador de las espigas PGO-r, proponiendo vías ascendentes y explicando su sincronía bilateral. Normalmente, las PGO-r ocurren sincrónicamente en los NGL derecho e izquierdo; en una serie de estudios estos autores pudieron inducir asincronía de PGO-r con una sección en la línea media a nivel de la decusación supraóptica, mostrando que cada hemisferio presenta autonomía de PGO-r y proponiendo la existencia de un generador bilateral. (Laurent y cols., 1974). Realizaron también varias hemisecciones frontales y observaron que el plano de la sección más rostral que deja intactas las PGO-r está localizado en la mitad caudal del núcleo reticularis pontis caudalis, mientras que el plano de la sección más caudal que suprimió PGO-r se localizó detrás del núcleo reticularis pontis oralis. Las lesiones reversibles mediante enfriamiento moderado (Laurent y Ayala, 1975), hechas bilateralmente a nivel del istmo pontomesencefálico, suprimieron las PGO-r de los NGL, mientras que el enfriamiento unilateral suprime sólo uno de los dos componentes de las ondas PGO-r. Esto apoya la hipótesis de un posible generador pontino bilateral, con fibras que ascienden hasta cruzar la línea media, a nivel de la decusación supraóptica, para dirigirse al NGL contralateral.

Delorme (1965) propone que la reserpina altera el mecanismo que mantiene a las espigas PGO confinadas al sueño MOR, provocando su ocurrencia durante la vigilia. Brooks (1972), registrando la actividad PGO en la corteza occipital y NGL, analizó los cambios inducidos por la reserpina a través del tiempo, administrándola en distintas dosis por vía intraperitoneal; concluye que la frecuencia de las espigas PGO es proporcional a la dosis aplicada y describe el síndrome reserpinico con 5 estados y un período de latencia:

**Período de latencia:** De 70 a 90 minutos después de la inyección la apariencia de los animales es normal. No hay cambios en la actividad PGO. Si el animal está en vigilia se observa que los movimientos oculares están acompañados por potenciales PGO de vigilia; si el animal tiene episodios de sueño MOR se presentan las espigas PGO del sueño.

**Estado 1:** Se inicia después de la latencia y termina unas 4 horas después de la inyección. Las espigas PGO provocadas son semejantes a las del sueño paradójico, aparecen y aumentan gradualmente pero pueden suprimirse por estímulos que produzcan despertar.

**Estado 2:** Comienza 4 horas después de la administración del fármaco y finaliza a las 30 horas. Las espigas PGO se presentan con frecuencia regular de 15 a 25 potenciales por minuto, no se suprimen por estímulos externos. Los animales están fuertemente sedados pero despiertos.

**Estado 3:** Se presenta 30 horas después de la aplicación y dura unas 10 horas. Las espigas PGO-r pueden modularse en frecuencia y amplitud. Las actividades de EEG y EMG son de baja amplitud y se asocian con un aumento en la frecuencia de los potenciales PGO-r.

**Estado 4:** Dura aproximadamente 8 horas. Las espigas PGO se inhiben gradualmente en los periodos del despertar conductual. Se inicia el retorno al SOL.

**Estado 5:** El sueño MOR retorna y aparecen espigas PGO durante el sueño de ondas lentas, algunos minutos antes del inicio del SP.

Este modelo reserpínico ha facilitado los estudios farmacológicos de la actividad PGO y se ha mostrado que las sustancias que suprimen las PGO-r también suprimen las PGO-s.

Además de la reserpina, existen otras sustancias que también provocan la aparición continua de actividad PGO, por ejemplos Paraclorofenilalanina (inhibidor de la síntesis de serotonina) (Delorme y cols., 1966), Tropolona+Dopa (Jones, 1970) y la 6-hidroxi-dopamina (Jouvet, 1972) aplicada intraventricularmente.

#### FACTORES DE SUEÑO.

Los estudios relativos a las sustancias inductoras de sueño se iniciaron con los experimentos de Legendre y Pieron (1910), quienes reportaron que el suero ó el LCR obtenidos de perros privados de sueño, indujeron un estado de somnolencia o sueño al ser administrados en el IV ventrículo de perros normales; basados en esto sugirieron que durante la vigilia se acumula en el LCR una "hipnotoxina" con propiedades inductoras de sueño, la cual se disipa al dormir. Si esos fluidos son calentados a 65°C ó ultrafiltrados, pierden sus propiedades inductoras de sueño (estas observaciones pueden anticipar la posibilidad de que la "sustancia inductora de sueño" sea de naturaleza peptidérgica).

#### FACTORES DE SUEÑO DEL CEREBRO.

Nagasaki (1974) privó de sueño a ratas durante 24 horas y obtuvo el tallo cerebral; lo homogeneizó, dializó y liofilizó e inyectó este extracto intraperitonealmente en ratas, observando un decremento en la actividad locomotora y un incremento en la actividad delta y en el tiempo ocupado en SOL. El experimento sugiere que el tallo cerebral contiene material promotor de sueño, el cual se acumula durante la vigilia y parece que cruza la barrera hematoencefálica.

Drucker-Colín (1973) ha hecho experimentos en los que extrae

de la formación reticular mesencefálica sustancias liberadas durante el sueño y ha probado los efectos de tales sustancias sobre las regiones homólogas de un animal receptor; estos experimentos mostraron que las sustancias obtenidas de gatos dormidos fueron capaces de inducir sueño al ser perfundidas en la FRM de gatos receptores. Dado que el método se basó en registros del ciclo S-V entero, se concluyó que los perfusados obtenidos de sitios cerebrales específicos durante el sueño, contienen sustancias capaces de influir en el desarrollo de la conducta de vigilia.

#### FACTOR S.

En la que podría ser considerada la extensión mas directa de los trabajos de Pieron, Pappenheimer (1967) y su grupo han realizado una serie de estudios suponiendo que el sueño es resultado de la acumulación de sustancias en el LCR durante la vigilia. Estos autores han observado que el LCR de gatos privados de sueño disminuye la actividad locomotora de ratas por varias horas, mientras que el LCR normal no provoca este efecto. Los procedimientos de filtración molecular indican que el factor inductor de sueño tiene un peso molecular de menos de 500 y ha sido llamado factor S (Pappenheimer, 1975).

Se han valorado los efectos de la administración de ultrafiltrados sobre la actividad locomotora de ratas y sobre el EEG de conejos. La administración de 0.1 ml de concentrado purificado de LCR de gatos normales y privados de sueño disminuyó significativamente por 12 horas la actividad locomotora nocturna de las ratas, en comparación de aquellas que recibieron solución salina; dado que una concentración de 20 veces la cantidad de LCR de animales no privados también produjo efectos, se sugirió que el factor S está presente en pequeñas concentraciones en animales normales. En conejos, la administración de 0.1 ml de factor S purificado incrementó la cantidad relativa de SDL en un 15-20% durante un periodo de 4 hrs.

Así, el factor 5 parece ser un péptido presente en el cerebro cuya concentración se incrementa como resultado de la privación de sueño y el cual tiene propiedades inductoras de sueño en distintas especies.

Krueger (1978) extrajo el factor 5 a partir de homogeneizados cerebrales, particularmente de tallo cerebral y mediante cromatografía de partición y electroforesis de alto voltaje obtuvo un producto activo purificado un millón de veces. La concentración en tejido cerebral parece ser de 0.3 nmol por gramo de tejido, siendo la dosis efectiva inductora de sueño cercana a 0.15 nmol.

Krueger reportó haber caracterizado al factor 5 derivado de orina y cerebro como un Muramil péptido y que algunos péptidos muramil sintéticos son somnogénicos. Inoué (1983) infundió muramil dipeptido (MDP) intraventricularmente, observando un aumento del SDL, resultado similar al obtenido después de infundir factor 5 en ratas (Krueger, 1980).

En conejos el MDP mostró efectos somnogénicos después de administrarlo icv, iv, ip o entérico (Krueger, 1982). En monos, las respuestas de sueño provocadas por el MDP fueron dependientes de la hora del día en que se administró (Wexler, 1984).

El factor 5 purificado contiene dos componentes activos: un muramil tetrapéptido y un muramil tripeptido (Krueger, 1984; Martin, 1984).

El papel que juegan los muramil péptidos en la fisiología de los mamíferos es poco conocido, ya que no hay vías sintéticas conocidas para algunos de los componentes del factor 5; sin embargo, tejidos de mamíferos normales contienen ácido murámico (Zhai, 1984) y su orina contiene ácido diaminopimélico.

#### PEPTIDO INDUCTOR DE SUERO DELTA (PISD).

Monnier y su grupo, en Suiza, estudiaron la posible transmisión del sueño a través del sistema circulatorio, uniendo las venas yugulares de conejos y estimulando el tálamo

intralaminar mediocentral, lo que provocó sincronización del EEG cortical tanto en el donador como en el receptor (Monnier, 1963), mostrando así que el sueño puede ser inducido por factores transportados por la sangre. Resultados similares se han obtenido en ratas (Matsumoto, 1972).

En estudios subsecuentes, Monnier y Hosli (1964, 1965) dializaron la sangre venosa cerebral y mostraron que el dializado de un conejo donador que se encontraba dormido indujo sueño en conejos receptores. Con esto, se inició una serie de estudios dirigidos al aislamiento y caracterización de una sustancia que resultó ser un nonapéptido, al cual llamaron péptido inductor de sueño delta (PISD), con un peso molecular de 849 y cuya secuencia de aminoácidos es  $\text{trp-ala-gly-asp-ala-ser-gly-glu}$  (Monnier, 1972). Polc (1978) probó los efectos de la administración intravenosa de 30 nmol y 300 nmol de PISD sobre el ciclo sueño-vigilia de gatos, encontrando que tanto el SOL como el SP se incrementaron con la dosis baja, pero la dosis alta no provocó cambios en el ciclo sueño-vigilia. El grupo de Monnier sugiere que el PISD actúa como un modulador de sueño más que como un neurotransmisor.

El PISD puede influir diferentes parámetros de ritmicidad biológica, lo cual sugiere que funcionalmente sea más que solo un péptido inductor de sueño (Schoenenberger, 1977).

Después de los trabajos anteriores, el concepto humoral del sueño fue revitalizado y algunos factores endógenos han sido nominados como posibles sustancias de sueño, aunque sus papeles particulares en el mecanismo regulador del sueño aún son desconocidos.

#### SUSTANCIA PROMOTORA DE SUEÑO

La sustancia promotora de sueño (SPS) es uno de los factores endógenos propuestos. Inoué sometió a un grupo de ratas a la privación de sueño y después de la decapitación removió el tallo cerebral, incluyendo bulbo, puente, mesencefalo e hipotálamo;

homogeneizó y dializó los tejidos y después de liofilización extrajo la SPS. Usando registros de sueño en ratas y ratones detectó incrementos en la cantidad de SOL y SP después de administrar varias fracciones de la SPS parcialmente purificadas (Honda e Inoué, 1981)

La SPS contiene al menos 4 componentes activos: SPS-A1, SPS-A2, SPS-B y SPS-X. La SPS-A1 fué posteriormente identificada como uridina, mientras que las otras fracciones permanecen químicamente sin identificar (Komoda, 1983).

La uridina, un nucleósido que se produce endógenamente, se caracterizó por un ligero pero sostenido efecto inductor de sueño. El SP fue afectado durante más tiempo que el SOL, siendo la dosis óptima tan pequeña como 10 pmol (Honda, 1984). Una infusión de 1-1000 pmol de uridina ejerce un efecto dependiente de la dosis y de la hora de infusión en la modulación del sueño. Con una infusión de 10 pmol al final del periodo de oscuridad se da un incremento significativo de SOL y SP por 45.5 min (21.0%) y 17.5 min (68.1%) respectivamente; el gran incremento en el SP se debe al pequeño valor de la línea basal. Esta dosis de uridina incrementó la frecuencia de episodios de SOL y de SP pero no su duración.

La infusión diurna de uridina afecta muy poco la frecuencia y duración de episodios de SOL y SP. (Honda y col., 1985).

Tanto la uridina como una fracción del extracto de tallo cerebral (SPS-B) mostraron efectos promotores de sueño estables y de larga duración, afectando tanto al SOL como al SP (Honda, 1978). Además, se ha observado que las sustancias "endógenas" aplicadas "exógenamente" no alteran el patrón natural de sueño (Inoué, 1984).

El rango de infusión de 10pmol por 10 hrs fue liberado en el LCR a un rango de 17 fmol por minuto; esto es 3.6 veces menor que la dosis mínima efectiva de prostaglandina D2 (PGD2), la cual es conocida como una de las más potentes sustancias de sueño (Ueno, 1983). Dado que la uridina se encuentra distribuida ampliamente

en el cerebro, se postula que una ligera elevación de sus niveles podría ser responsable del disparo de sueño (Komoda, 1983). Los efectos promotores de SOL provocados por la uridina fueron moderados, sin embargo, reveló un efecto de larga duración sobre dos noches sucesivas y un fuerte efecto promotor de SP. De acuerdo con esto, la uridina podría jugar un papel más bien básico, no específico, en la regulación del sueño (Inoué, 1983).

Se han probado, con el mismo diseño en el registro de sueño, diferentes sustancias promotoras de sueño, siendo la SPS-B la más potente para inducir cambios estables y de larga duración, tanto en el SOL como en el SP; el PISD es inmediatamente efectivo y muy potente pero su efecto es de corta duración; el MDP tuvo efectos promotores leves en el SOL y el efecto sobre el sueño provocado por la PGD2 fue de incremento ligero al inicio de la infusión, pero es más prominente después. Las propiedades diferenciales de esas sustancias sugieren que el sueño podría ser regulado por varios factores humorales, ya que algunos afectan tanto al SOL como al SP mientras que otros sólo modulan una u otra fase.

#### **POLIPEPTIDO FACTOR DE SUEÑO MOR.**

Oswald (1969) sugirió que el rebote de sueño MOR que ocurre durante la desintoxicación de drogas refleja una fase de restauración neuronal, indicada por el incremento en la síntesis de proteínas y sugiere que situaciones en las que se incrementa la síntesis de proteínas podrían llevar a sueño MOR. Desde el descubrimiento de Takahashi (1968) de una relación entre la liberación o producción de hormona del crecimiento (GH) con el sueño, se han realizado varios estudios investigando esta asociación. Aunque hay reportes que muestran que la secreción nocturna de hormona del crecimiento podría ocurrir en algunos sujetos a pesar de una casi total ausencia de SOL (Sassin, 1969), en general puede decirse que la secreción de GH está asociada con esta fase del sueño. La hormona del crecimiento se ha considerado como parte del mecanismo de disparo del sueño por el hecho de que

en mamíferos normales adultos una de las características más estables del ciclo de sueño es que el SOL siempre precede la ocurrencia de sueño MOR. Dado que en el hombre los períodos iniciales de SOL son los únicos donde se produce la liberación pronunciada de GH, se sugirió la posibilidad de que un disparo de GH podría jugar un papel en el disparo subsecuente de episodios de MOR; algunas evidencias en relación a esto provienen de experimentos que muestran que la administración de GH a ratas (Drucker-Colín, 1975) y gatos (Stern, 1975) produce un incremento específico de sueño MOR dependiente de la dosis. Un incremento similar en el SP se observó después de administrar GH a humanos (Mendelson, 1980), esto indica que la GH es una sustancia que incrementa el tiempo de sueño MOR en varias especies. Estos resultados sugieren que la síntesis de proteínas podría estar involucrada en los mecanismos que disparan al sueño paradójico.

En experimentos adicionales se ha mostrado que la inhibición de la síntesis proteica también afecta algunos de los componentes del SP, principalmente los fenómenos fásicos y se ha reportado que inhibidores de la síntesis proteica disminuyen la cantidad de sueño MOR fásico en cerca del 50% (Drucker-Colín y cols., 1979).

Si bien no es claro cómo los inhibidores de la síntesis proteica y el decremento de la actividad fásica afectan la ocurrencia normal del SP, se han obtenido evidencias que sugieren que podrían afectar tanto el disparo como la duración; aunque esos experimentos sugieren que las proteínas podrían estar involucradas en la regulación del SP, la evidencia es correlativa, ya que es difícil determinar si la liberación de proteínas es causa o efecto del sueño MOR.

Así, es posible que un polipéptido específico esté siempre presente en el fluido extracelular y sea activo sólo durante el SP o alcance niveles adecuados a un tiempo particular; apoya esto el hecho de que durante el SP hay por lo menos el doble de cantidad de proteína que durante la vigilia (Drucker-Colín y Spanis, 1975). Por lo tanto, puede ser que la ocurrencia del SP

dependa de una señal de entrada de un polipéptido, el cual traduciría esa señal en un tipo específico de patrón de disparo, que a su vez estimularía una serie de estructuras para las varias actividades neuronales del SP.

Recientemente, Drucker-Colín y col. proponen también otras sustancias (dos péptidos gastroenteropancreáticos) como inductoras de SP: El péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la colecistocinina (CCK-8) (Prospéro-García y Drucker-Colín, 1986; 1987); aunque, dada la gran cantidad de sustancias que afectan el sueño, ellos proponen que el mecanismo del sueño tendría que ser independiente de los factores, pero todos los factores podrían influir sobre el mecanismo. De esta manera, cualquier procedimiento que altere la frecuencia de descarga neuronal arriba o abajo de cierto nivel (p.ej. estímulos sensoriales), podría prevenir o incrementar el SP (Drucker-Colín y Bernal-Pedraza, 1983), (Drucker-Colín y Prospéro-García, 1987).

Por otro lado, Sallanon (1982), mediante la inyección iv de LCR de animales privados de SP logró restaurar e incrementar el SOL e inducir SP en gatos insomnes pretratados con paraclorofenilalanina (PCPA), que es un potente supresor de la síntesis de 5-HT, ya que inhibe la actividad de la triptofano hidroxilasa. Este experimento muestra que la transferencia de una pequeña cantidad de LCR (250  $\mu$ l) de un gato privado de SP restaura este tipo de sueño, lo que sugiere que un factor inductor de SP podría encontrarse en el sistema nervioso central durante la privación de sueño.

Adrien y Dugovic (1984) realizaron un experimento en el cual la disminución de SP observada en ratas después del bloqueo farmacológico de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos por propranolol, es revertida por la infusión intraventricular de LCR de ratas donadoras privadas de SP por el método de la isla. El registro de sueño en los donadores indicó que las ratas fueron privadas de 93% de SP y 7% de SOL; la restauración en los animales receptores fue proporcional a la duración de la privación en los donadores y

el rebote de SP obtenido durante las primeras 6 hrs de recuperación se incrementó con la duración de la privación, lo que sugiere que la cantidad del factor de sueño en el LCR de los animales se incrementó de manera similar. La infusión de LCR artificial o de donadores no privados no modificó el patrón de sueño, mientras que la transferencia de LCR de donador privado indujo una progresiva restauración del SP sin cambio en el SOL, alcanzando valores casi normales con 20  $\mu$ l de LCR de un donador privado durante 4 días. Los autores sugieren que el factor de SP podría ser liberado al LCR a través del plexus coroides bajo el control del sistema noradrenergico y concluyen que algún factor inductor de SP se acumula progresivamente en el LCR durante la privación. Este factor actuaría sobre un mecanismo noradrenergico en la regulación del SP.

### C) PROBLEMA

Basados en los antecedentes que sugieren la existencia de un factor de SP en el LCR de animales sometidos a privación (Gallanov, 1982; Adrien, 1984; Drucker-Colin, 1987) y debido a que las espigas PGD son la primera manifestación de esta fase de sueño, pensamos que de alguna manera podrían estar relacionados. Por otra parte, aún cuando se ha observado que muchas sustancias son capaces de modificar el sueño, no se conoce con exactitud el mecanismo por el cual lo hacen, ni en donde actúan específicamente; debido a esto último nos planteamos dos preguntas para resolver en este estudio: En la primera, trataremos de determinar cuál es el efecto que provoca la microinyección intraventricular de LCR de gato privado de SP sobre la actividad PGD en el animal receptor reserpinizado.

Una vez conocido el efecto provocado por la inyección ventricular de LCR-p, utilizaremos ese dato para tratar de determinar cuál es el sitio de acción del factor de SP del LCR. Para resolver esta segunda cuestión, analizaremos comparativamente los efectos de la microinyección de LCR-p en dos de las regiones propuestas como estructuras generadoras de la actividad PGD: el área X (Sakai, 1976; 1980; 1985) y el campo tegmental giganteocelular (Hobson, 1974; 1980).

#### D) HIPOTESIS

1.- Si el factor de SP del LCR aumenta este tipo de sueño, entonces al aplicarlo en el III ventrículo se incrementará también la actividad PGO-reserpina.

Ho.- La frecuencia de las espigas PGO no se modificará con la inyección ventricular de LCR de animal privado.

2.- Si el área X ó el FTG son el lugar de acción del factor inductor de SP presente en el LCR, entonces al aplicarlo separadamente en esos núcleos, obtendremos en uno de los dos casos efectos similares a los observados con la inyección en el ventrículo.

Ho.- La microinyección de LCR-p en el FTG o en área X no modificará la frecuencia de las espigas PGO-r.

#### E) OBJETIVOS

Mediante este estudio se pretende alcanzar los siguientes objetivos:

1).- Valorar si el LCR de animales privados de SP actúa sobre el mecanismo disparador de la actividad PGO-reserpina.

2).- Determinar si el área X ó el FTG intervienen en la generación de las ondas PGO.

3).- Cuantificar cambios en la frecuencia de las ondas PGO después de inyectar LCR de donadores con y sin privación de sueño paradójico en el III ventrículo, área X y FTG.

4).- Determinar histológicamente el sitio de microinyección para establecer la correlación existente con los efectos observados.

## F) MATERIAL Y METODOS

### Características del material biológico.

En este trabajo se utilizaron como sujetos experimentales 28 gatos (Felis catus), de los cuales 6 fueron sometidos a implantación de cánulas de succión para obtención de líquido cefalorraquídeo y posteriormente a privación de sueño paradójico. Los 22 gatos restantes fueron utilizados en experimento agudo, con previa reserpinización, en el que se registró la actividad PGO, se aplicaron microinyecciones de LCR y al finalizar el registro se perfundieron para análisis histológico del cerebro.

Utilizamos como donadores de líquido cefalorraquídeo gatos machos para disminuir la posibilidad de cambios por influencias hormonales durante la privación de sueño y con un peso entre 2.5 y 4.0 kg para que soportaran adecuadamente las condiciones del método de privación.

Los gatos utilizados en el experimento agudo fueron de cualquier sexo y con 2.0 a 3.0 kg de peso.

### ANIMALES DONADORES.

#### a).- Implantación de cánulas para succión.

Los gatos donadores fueron sometidos a cirugía estereotáxica para la implantación de cánulas guía en el tercer y cuarto ventrículos, determinando el sitio mediante coordenadas obtenidas del Atlas de Snider y Niemer (1961) y del Atlas de Berman (1968) (Ver fig. 1). Para ello se colocó al animal anestesiado (Ketalar, 70 mg por Kg) en el aparato estereotáxico y con un bisturí se hizo una incisión a lo largo de la línea media que permitió dejar el cráneo al descubierto, se limpió éste perfectamente y se marcó el sitio donde se haría el trépano, de acuerdo a coordenadas estereotáxicas; se hizo el trépano y se colocó la cánula (de acero inoxidable, del número 18 y con una longitud de 17 mm) en el lugar adecuado, usando una torre estereotáxica; alrededor del trépano se colocaron tornillos de acero inoxidable para una mejor

sujeción del acrílico dental que posteriormente se aplicó para mantener la cánula implantada crónicamente. Una vez que el acrílico endureció se retiró la torre, se limpió perfectamente la herida y se suturaron los extremos. Después de la cirugía inyectamos antibióticos para prevenir infecciones y vigilamos la cicatrización. Las cánulas se mantuvieron obstruidas con su "mandril" correspondiente.

Para tener una mayor seguridad de dejar la cánula implantada en el lugar correcto, antes de aplicar el acrílico puede introducirse a través de la cánula guía una cánula del número 21 de 20 mm de largo y succionar lentamente con una jeringa de 1 cc hasta obtener líquido cefalorraquídeo.

b).- Privación de sueño paradójico.

Después de una total recuperación de la cirugía y con previa habituación, los gatos donadores fueron sometidos a privación de SP por el método de la isla (Vimont-Vicary y Jouvst, 1966) (Ver fig. 2). En este método el animal es colocado en una plataforma de 15 cm de diámetro dentro de un tanque con agua, de tal manera que puede acomodarse e incluso dormir en SOL, pero al llegar a SP la atonía muscular característica de esta fase de sueño provoca que el animal caiga al agua despertándose de inmediato, lo que nos permite una privación selectiva de SP.

En este experimento los animales fueron privados de SP durante un periodo de 72 hrs.

c).- Obtención del LCR.

Después de la privación, obtuvimos el líquido cefalorraquídeo (LCR-p), haciendo pasar a través de la cánula guía una cánula de succión de acero inoxidable, del número 21 y de 20 mm de longitud, para llegar a la parte superior del interior del tercer o cuarto ventrículos. La cánula fue conectada, por medio de un tubo de polietileno, a una jeringa de 1 ml, con la que se realizó la succión del líquido hasta obtener una cantidad adecuada (de 200 a 300  $\mu$ l). Una vez que obtuvimos el LCR lo pasamos a una microjeringa y al sistema de microinyección.

## ANIMALES RECEPTORES.

### 1).- Reserpinización.

Nuestros animales receptores de líquido cefalorraquídeo fueron previamente tratados con una inyección ip de reserpina (1mg por Kg), 12 horas antes de ser sometidos al experimento agudo, con la finalidad de provocar el disparo continuo de espigas PGO. El estado 2 del síndrome reserpínico (Brooks y Gershon, 1972) nos proporciona una actividad PGO con una frecuencia estable y duradera, lo que nos permite obtener mayor confiabilidad de que los cambios observados sean debidos a las inyecciones de LCR.

### EXPERIMENTO AGUDO.

#### 2).- Peso del animal

Es necesario determinar el peso del animal para calcular la dosis correspondiente de anestésico (Uretano, 1 gr/Kg), los requerimientos básicos de líquidos (100 cc/kg/día) y de excreción de orina (1-2 ml/Kg/hr).

#### 3).- Venoclisis

Bajo anestesia local con xylocaína subcutánea se realizó una venodisección de la femoral para la introducción de un catéter (fig. 3). A través de un sistema de venoclisis se hizo pasar una solución Dextrosa-Hartmann 2:1; primero una carga rápida de 20-40 cc/Kg/hr para compensar la deshidratación causada por la reserpina y después de una hora regulamos el goteo a 100 ml/Kg/día, para asegurar una buena hidratación del animal durante todo el experimento.

A través del cateter anestesiámos al animal con Uretano (1 gr/Kg iv) y posteriormente se sutura la herida.

#### 4).- Cistostomía

Después de cortar el pelo al animal en la región abdominal se procedió a realizar una incisión en la línea media para hacer una cistostomía, lo que nos permitió colocar una sonda en la vejiga urinaria y ligar la uretra para poder coleccionar y cuantificar la orina durante el experimento y regular así la reposición de líquidos. Suturamos por capas (fig. 3).

#### 5).- Traqueostomía

Disecamos la tráquea y haciendo una incisión entre dos anillos cartilagosos colocamos una cánula endotraqueal de dos vías para administrar respiración artificial. Después de esto inyectamos curarizante Pancuronio (Pavulon) intravenoso para asegurar la inmovilidad del animal; al dejar de respirar el gato conectamos a la cánula de respiración una bomba de presión positiva intermitente para administrar aire húmedo, regulando la cantidad de aire que pasaba a los pulmones según la expansión del tórax (fig. 3).

#### 6).- Montaje

Para colocar al animal en el marco estereotáxico introducimos en los conductos auditivos los "lápices" o barras auditivas, éstas se sujetaron con tornillos a las barras paralelas cuidando que quedaran perfectamente centradas y para asegurar una perfecta sujeción colocamos soportes en la parte inferior de las órbitas y en el paladar (fig. 1). El aparato estereotáxico nos permite la localización de cualquier estructura del encéfalo, utilizando un sistema de coordenadas en tres dimensiones establecidas en un atlas estereotáxico.

#### 7).- Sección medular

Cortamos el pelo en la parte posterior del cuello y en la parte superior de la cabeza, cortamos la piel y con gubias descubrimos la médula, seccionando esta a nivel cervical 1-3 para asegurar la inmovilidad del animal. Cerramos la herida.

#### 8).- Craneotomía

Una vez eliminado el pelo de la parte superior de la cabeza cortamos la piel del cráneo longitudinalmente, separamos los músculos y limpiamos el hueso perfectamente; mediante torres con coordenadas estereotáxicas marcamos el sitio donde haríamos los trépanos e hicimos éstos con un taladro dental. Colocamos los electrodos de registro en los NGL derecho e izquierdo y las cánulas de microinyección en el III ventrículo, en el área X o en el FTG, también según coordenadas estereotáxicas. Conectamos los

electrodos al poligrafo y procedimos a tomar el registro control.

#### 9).- Registro de la actividad PGD

Se registraron los potenciales PGD en los NGL derecho e izquierdo (fig. 4), utilizando electrodos bipolares de acero inoxidable de 200  $\mu$ m de diámetro, con separación de 1 mm entre los polos y con aislamiento de barniz, excepto a 0.5 mm de la punta. Se usó un poligrafo Grass modelo 78-D, con el papel corriendo a una velocidad de 5 mm/seg; uno de los canales fue conectado a un contador digital. Se tomó un registro control continuo, promediando cada 10 min, durante una hora antes de la microinyección y después de inyectar se continuó el registro, promediando el conteo de espigas cada 10 min, durante dos horas y media.

#### 10).- Microinyecciones de liquido cefalorraquideo

Para hacer las microinyecciones (figs. 5 y 6) conectamos la cánula de inyección a una microjeringa y llenamos todo el sistema con LCR, introducimos la cánula a través de la guía hasta la estructura deseada e hicimos descender el émbolo mediante un microinyector. Inyectamos 100  $\mu$ l en el tercer ventrículo a una velocidad de 20  $\mu$ l/min y en el área X y FTG aplicamos 2  $\mu$ l a 0.2  $\mu$ l/min, dejando la cánula insertada durante 15 minutos para evitar escurrimientos (fig. 7). Registramos en el poligrafo para observar los cambios en la frecuencia de las espigas PGD debidos a la acción del LCR inyectado. Hicimos microinyecciones de LCR de donador sometido a privación de sueño paradójico (LCR-p) en tres lotes experimentales: III vent (n=3), área X (n=5) y FTG (n=9). En dos lotes control hicimos microinyecciones de LCR de donador sin privación de SP (LCR-no p): III Vent (n=3) y FTG (n=6); en este caso a los gatos receptores se les inyectó LCR de un donador sometido a condiciones similares a las de privación, es decir, que estuvo colocado en una plataforma dentro de un tanque con agua durante 72 hrs antes de obtener el LCR, sólo que la plataforma fue mas grande (25 cm de diámetro), lo que permitió al animal dormir incluso en SP. Estas microinyecciones control se

hicieron con el objeto de comprobar que los efectos observados no fueron debidos al stress, a la lesión o al volumen inyectado.

#### ii).- Análisis histológico

Al terminar el registro los animales fueron perfundidos por vía intracardiaca (fig. 8) con solución salina para lavar y con una solución de formol al 10% para fijar el cerebro, el cual fue extraído y mantenido en formol al 10 % para posteriormente hacer cortes histológicos de 60-80 micras en un microtomo de congelación, los que fueron teñidos con la técnica de Nissl. Se analizó así (fig. 9) la colocación de los electrodos y el lugar donde se realizó la microinyección.

#### Análisis de los resultados

Los resultados fueron analizados comparando los datos obtenidos antes y después de la administración de líquido cefalorraquídeo y también comparando los efectos de las microinyecciones de LCR de donadores privados de SP contra los efectos del LCR de donador sin privación, en cada grupo.

En el análisis estadístico se utilizó la prueba de "t" para comprobar si las diferencias observadas fueron significativas.

COLOCACION DEL SUJETO EN EL APARATO ESTEREOTAXICO

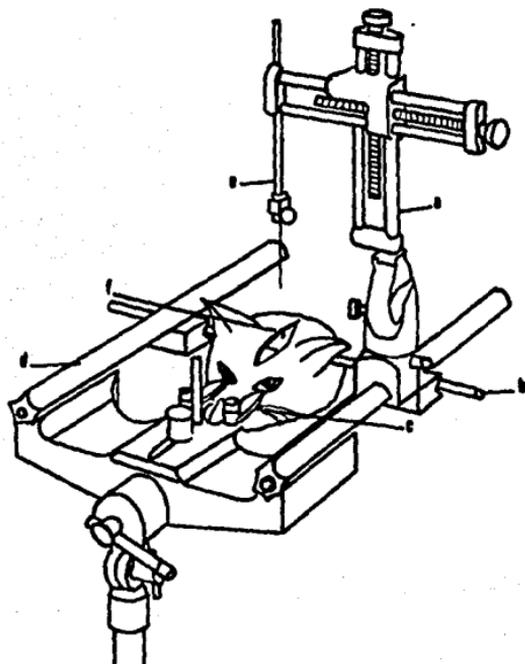


Fig. 1

- |   |  |
|---|--|
| a.- Torre estereotáxica.  | d.- Barra estereotáxica.                 |
| b.- "Lágriz" estereotáxico.   | e.- Electrodo ó cánula.                  |
| c.- Barras de sujeción en la zona inferior interna de la órbita ocular. | f.- Incisión en el cráneo (trepanación). |

## PRIVACION DE SUEÑO PARADOJICO

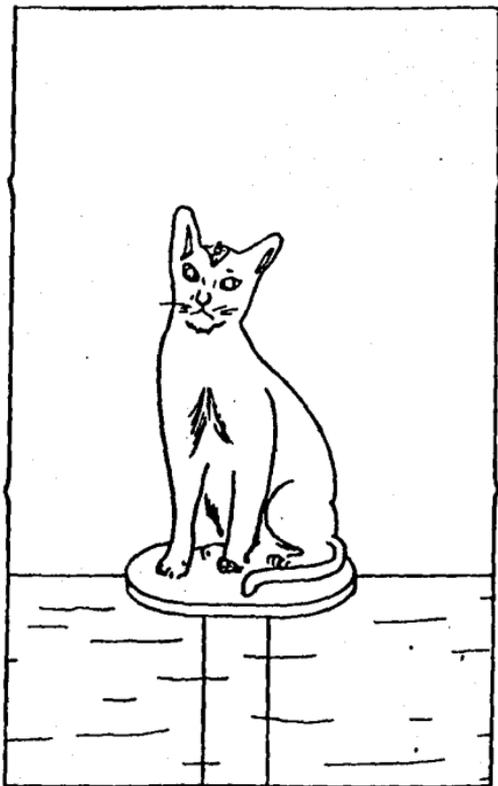


Fig. 2

Privación de sueño paradójico por el método de la isla o método del tanque de agua.

Después de un período de habituación, el gato fue colocado en una plataforma rodante de agua, dentro de un tinaco. Se le mantuvo 72 hrs. sin dormir en SP, pero sacándolo para comer y descansar.

## PREPARACION EXPERIMENTAL CIRUGIAS

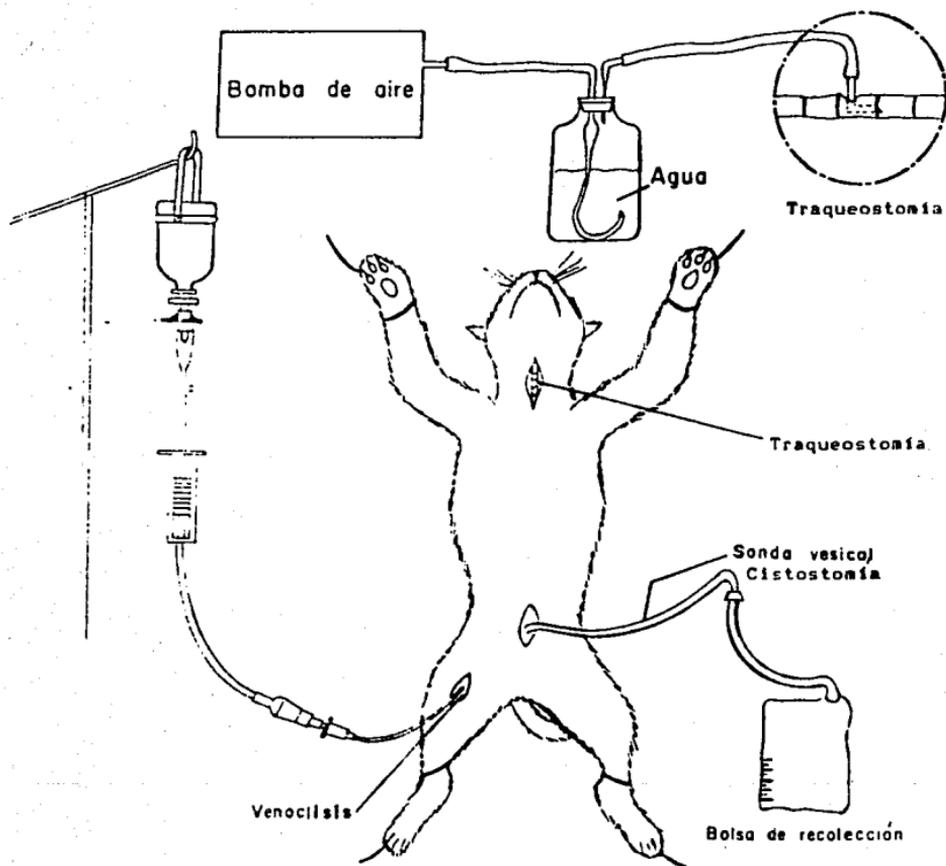
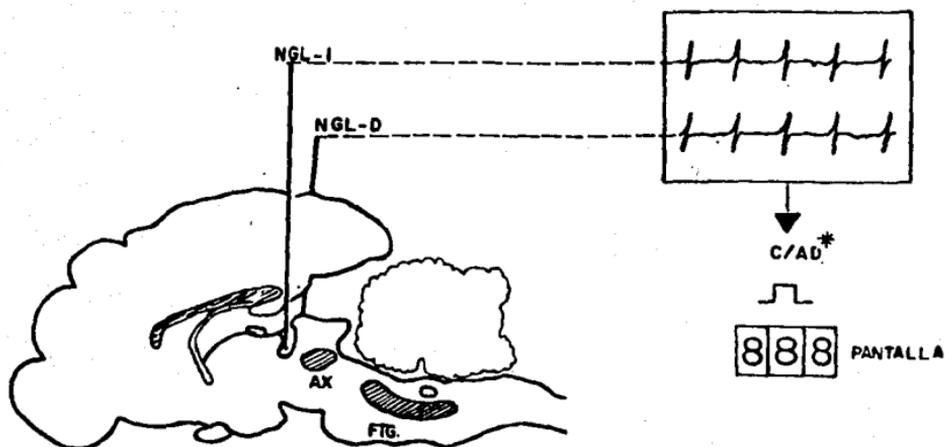


Fig. 3 Representación esquemática de las intervenciones quirúrgicas realizadas en el animal receptor de LCR. Se muestran los aditamentos necesarios para mantener al animal en buenas condiciones.

ESQUEMA SAGITAL DEL ENCEFALO DE GATO



\* Convertidor analógico/digital

Fig. 4

Se representan las regiones en donde fue registrada la actividad PGO (Núcleo geniculado lateral, derecho e izquierdo); las zonas sombreadas representan las regiones en las que se hicieron microinyecciones de líquido cefalo-raquídeo.

# SISTEMA DE MICROINYECCION

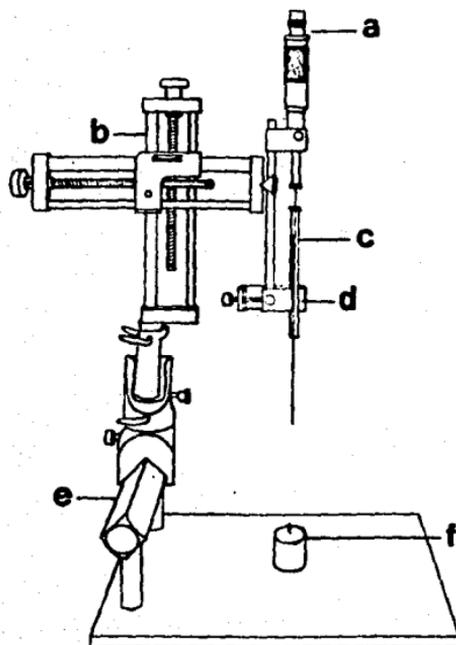


Fig. 5

- |                                    |                                 |
|------------------------------------|---------------------------------|
| a) Micrómetro                      | d) Sujetador de la microjeringa |
| b) Torre estereotáxica             | e) Barra estereotáxica          |
| c) Microjeringa (10 ó 100 $\mu$ l) | f) "Cero" estereotáxico.        |

DONACION DE LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

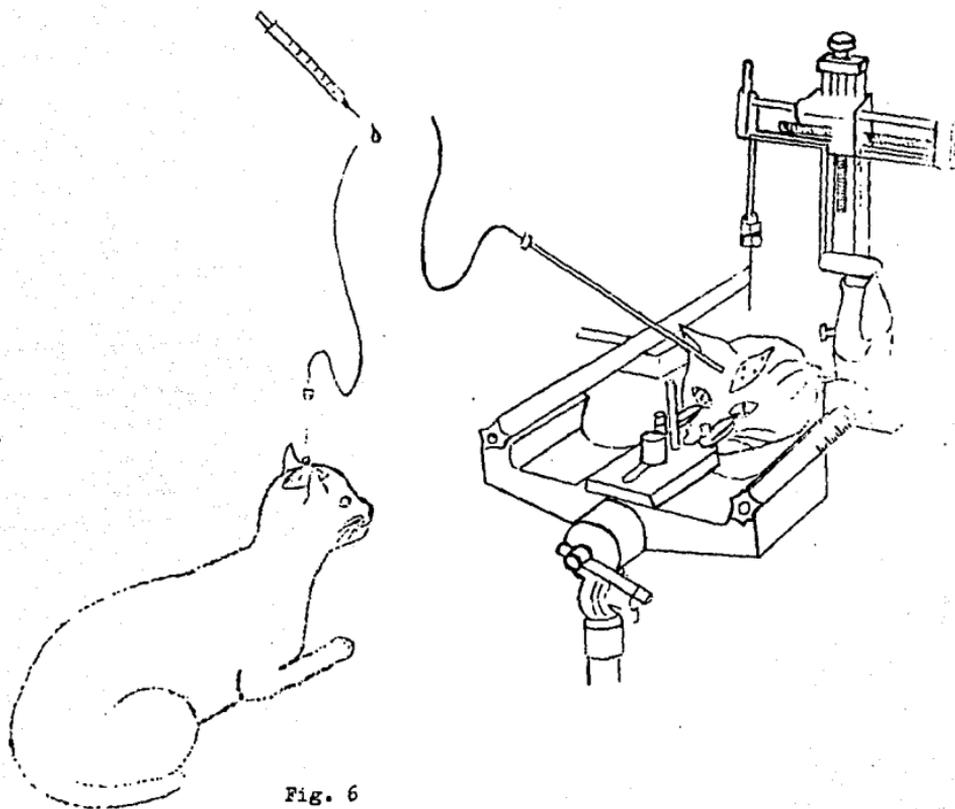


Fig. 6

Después de la privación de SP, el LCR fue extraído del donador y mediante el sistema de microinyección fue aplicado a los gatos receptores en la estructura deseada (III Ventriculo, FTG ó Area X).

## SITIOS DE MICROINYECCION DE LCR

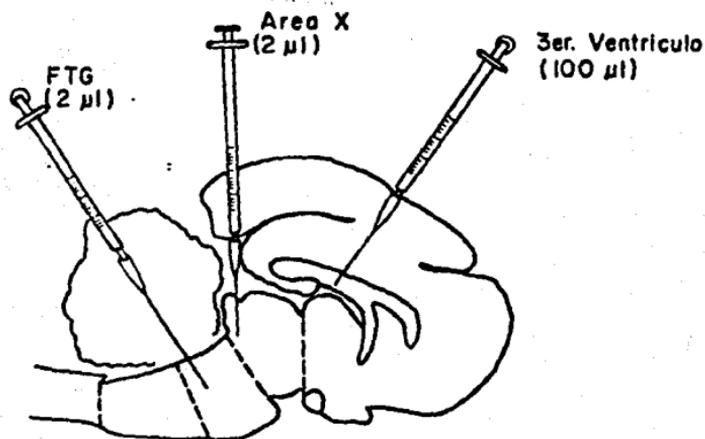


Fig. 7

Esquema del encéfalo donde se muestran los sitios de microinyección y la cantidad de LCR aplicada en cada caso.

PERFUSION INTRACARDIACA

SOL: SALINA

FORMALDEHIDO 10%



Fig. 8

Al terminar el registro electroencefalográfico se realizó la perfusión del animal para conservar el cerebro y así poder verificar la correcta colocación de los electrodos y de las cánulas de microinyección.

ESQUEMA SAGITAL DEL TALLO CEREBRAL DEL GATO

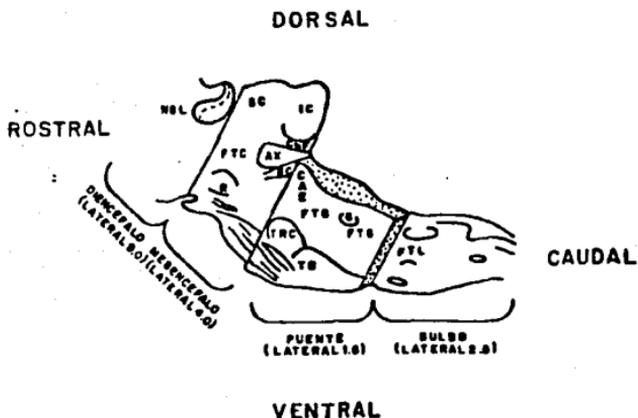


Fig. 9

- |                                 |  |
|---------------------------------|--|
| NGL- Núcleo geniculado lateral. | FTG- Campo tegmental gigantocelular.     |
| SC- Colículo superior.          | 6- Núcleo abducens o VI par.             |
| IC- Colículo inferior.          | R- Núcleo rojo.                          |
| CNF- Núcleo cuneiforme.         | FTC- Campo tegmental central.            |
| AX- Area X.                     | TRC- Núcleo reticular tegmental central. |
| CAE- Locus coeruleus.           | TB- Cuerpo trapezoide.                   |
| BC- Brachium conjunctivum.      | FTL- Campo tegmental lateral.            |

## G) RESULTADOS

### Grupo I

#### Subgrupo 1.- Microinyecciones de LCR de donador privado de SP en el III Ventrículo de animales receptores.

Los 3 gatos utilizados en este subgrupo recibieron 100  $\mu$ l de LCR, ya que el objetivo de este grupo fue valorar los cambios provocados sobre las PGD-reserpina por el LCR de donador privado de SP, sea cual fuere su sitio de acción. Se tomó un registro control previo a la inyección durante 80 min, siendo el promedio de espigas PGD/min de 18.63  $\pm$  8.83 (X  $\pm$  EE). Después de inyectar el LCR registramos durante 140 min, observando un aumento en la frecuencia de la actividad PGD, con un promedio de 27.12  $\pm$  11.6 potenciales PGD/min. Si tomamos como 100% al valor control, tenemos un 45.57% de incremento en la frecuencia por minuto de la actividad PGD. El análisis estadístico mediante la prueba de "t" (t=2.94) resultó con una p < 0.05, que nos indica que el cambio provocado por la microinyección de LCR de donador privado de SP es significativo (Tabla I).

La densidad media de las espigas PGD antes y después de la inyección se muestra en la fig.10.

El curso temporal promedio del porcentaje de cambio puede observarse en la fig.11, donde se observan los efectos provocados por la inyección ventricular de LCR-p. El valor control es el 0% y la zona sombreada corresponde al error estándar control; observamos que al finalizar la microinyección se incrementa la frecuencia de las espigas PGD, presentando un valor del 30% sobre la frecuencia basal; a los 60 minutos se observó el valor máximo de incremento, sobrepasando en 60% la línea de base; este incremento se mantiene durante todo el periodo analizado (140 min.) después de la inyección.

TABLA 1. LCR-p EN EL III VENTRICULO (100 ul)

	n	X	EE	% de cambio	t	p
CONTROL	3	18.6	8.8	0		
LCR-p	3	27.1	11.6	45.6	2.94	0.05

Tabla 1. Se muestra el número de sujetos (n), el promedio de espigas PGD/min (X), el error estandar (EE), el porcentaje de cambio en la frecuencia, respecto al control, provocado por el LCR (%), la "t" de student calculada (t) y la probabilidad correspondiente según las tablas (P). En este caso el incremento observado es estadísticamente significativo.

Densidad promedio de PGO  
LCRp en III ventrículo

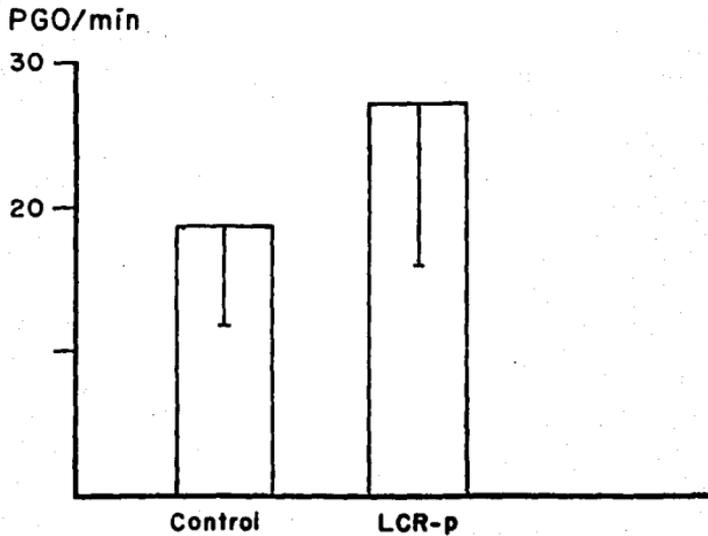


Fig. 10 Se muestra la densidad media global de espigas PGO antes y después de la microinyección de LCR-p. El cambio es estadísticamente significativo.

Curso temporal del % de cambio de la actividad PGO provocado por el LCR-p en III ventrículo (100 $\mu$ !).

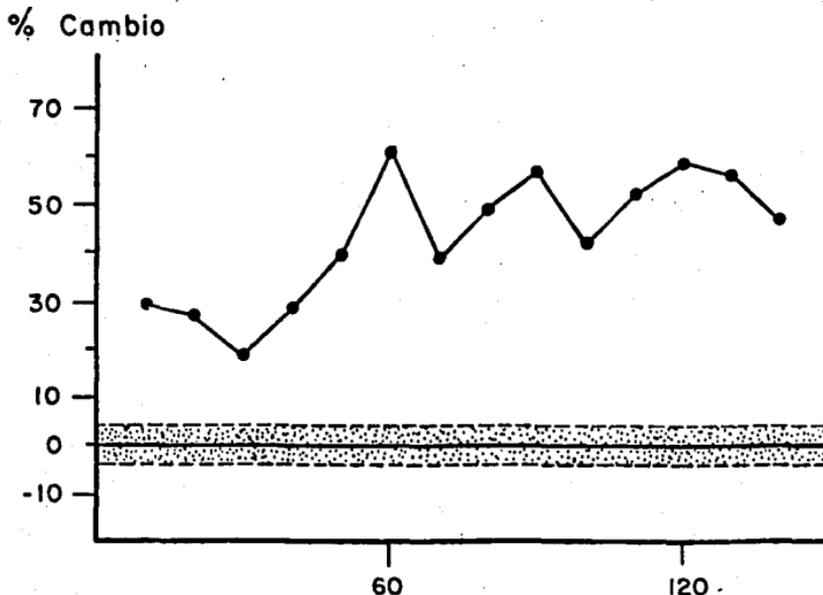


Fig. 11 Se observa el cambio en la frecuencia de los potenciales PGO posterior a la inyección de LCR-p. El 0% es el promedio de los valores control y la zona sombreada es el error estandar control. Inmediatamente después de aplicado el LCR-p se observa un incremento del 30% y a los 60 min. se observó el pico máximo, con un valor del 60% de incremento sobre la basal. Estos cambios son estadísticamente significativos.

## Grupo I

### Subgrupo 2.- Microinyecciones de LCR de donador no privado de SP en el III Ventrículo de animales receptores.

En este subgrupo también se utilizaron 3 gatos, los que recibieron 100  $\mu$ l de LCR pero de donadores que no sufrieron privación de SP. El objetivo de este experimento fue descartar la posibilidad de que el incremento en la frecuencia de las espigas PGD observado al inyectar LCR-p fuera debido a la manipulación. En este caso se tomó un registro control durante 90 min, observándose una frecuencia promedio de 26.0  $\pm$  1.7 potenciales PGD/min. Después de la inyección registramos durante 110 minutos, obteniendo una frecuencia de 21.5  $\pm$  2.7 espigas PGD/min, es decir, observamos un decremento del -17.7%. El análisis estadístico ( $t=1.72$ ) reveló que el cambio no es significativo (Tabla II). La densidad de espigas PGD antes y después del LCR se muestra en la figura 12 y el curso temporal del porcentaje de cambio se muestra en la figura 13, en donde podemos apreciar que la inyección de LCR-no p en el III ventrículo no provocó cambios significativos en la frecuencia de las espigas PGD.

La figura 14 nos muestra los cambios observados en la frecuencia de las espigas PGD después de realizar las microinyecciones en el III ventrículo, tanto de LCR de donador privado como de LCR de donador sin privación. Esta gráfica muestra que la microinyección de LCR-p en el III ventrículo provoca un incremento significativo del 46% en el número de espigas PGD, mientras que el LCR-no p no afecta a la actividad PGD-r.

TABLA 11. LCR-no p EN EL III VENTRICULO (100 ul)

	n	$\bar{X}$	EE	% de cambio	t	p
CONTROL	3	28.0	1.7	0		
LCR-no p	3	21.5	2.7	-17.1	1.72	NS

Tabla 11.- La microinyección de LCR de donador no privado de SP, en el tercer ventrículo de animales receptores, no provoca cambios importantes en la frecuencia de las espigas PGD, ya que el decremento observado no es estadísticamente significativo (NS).

Densidad promedio de PGO  
LCR no-p. III ventrículo

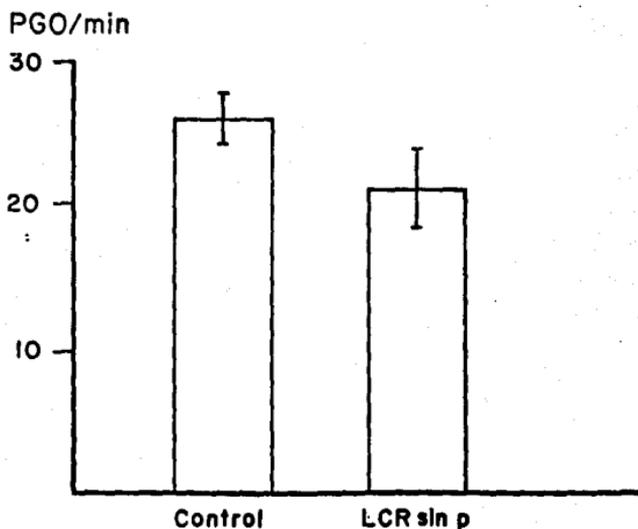


Fig. 12. EL número de espigas por minuto disminuye ligeramente después de inyectar LCR - no p en IIIV, el decremento no es significativo.

LCR sin privación  
Ventriculo

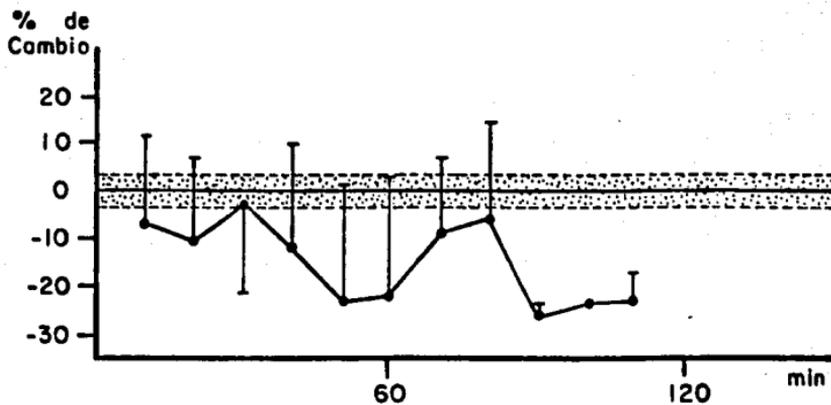


Fig. 13 Se muestra el curso temporal del porcentaje de cambio de la actividad PGO después de inyectar LCR de donador no privado de SP en el III Ventriculo. El decremento observado no difiere significativamente de los valores control (0%).

### Microinyecciones en III ventrículo

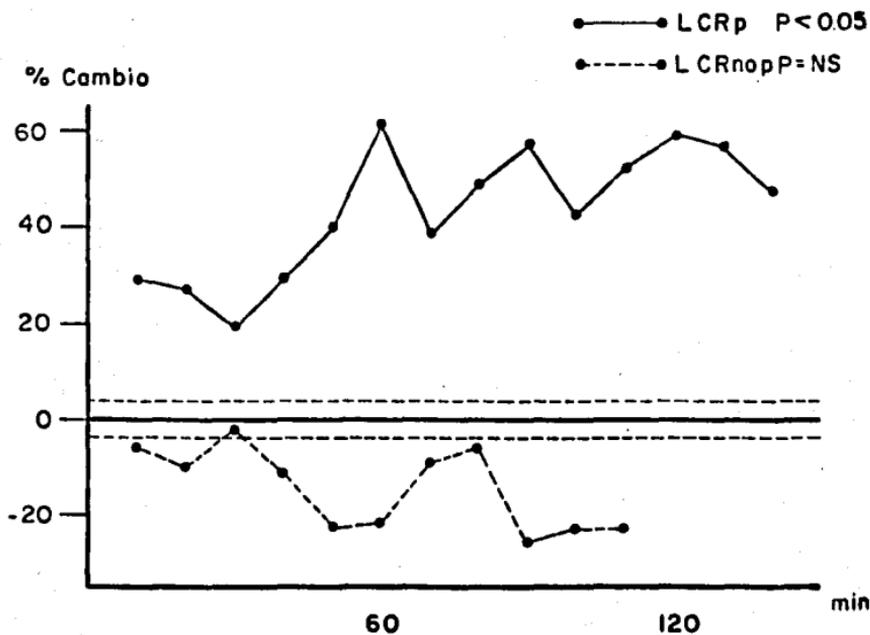


Fig. 14 Puede observarse que el LCR de donador privado de sueño paradójico provoca un incremento inmediato y duradero en la frecuencia de las espigas FGO, mientras que el cambio provocado por el LCR-no p no es estadísticamente significativo.

## Grupo II

### Subgrupo 1.- Microinyecciones de LCR de donador privado de SP en el FTG.

En este grupo usamos 9 gatos, que recibieron 2  $\mu$ l de LCR-p inyectados en el FTG. El objetivo de este grupo fue buscar de manera más precisa el posible sitio de acción del factor inductor de sueño paradójico presente en el líquido cefalorraquídeo, o en su defecto, el sitio de acción para los efectos provocados sobre la actividad PGO.

El registro control previo a la aplicación del LCR en el FTG fue de 70 minutos, mostrando una frecuencia de 29.4  $\pm$  2.8 potenciales PGO por minuto; después de inyectar el LCR-p registramos durante 150 minutos y observamos un cambio en la frecuencia de las espigas PGO con un promedio de 39.6  $\pm$  2.4 espigas por minuto, es decir, un incremento del 34.6% sobre el valor control. Este cambio, según la prueba de t ( $t=3.88$ ), es estadísticamente significativo, obteniendo una  $P<0.005$  (Tabla 3).

La densidad de espigas PGO durante el registro control y posterior a la inyección se muestra en la figura 15.

En la figura 16 puede verse el curso temporal del porcentaje de cambio; se observa un incremento inmediato del 13% sobre el valor control, a los 60 minutos de la inyección el incremento es del 24% y después, a las dos horas y media, el incremento alcanza un 38% sobre la línea basal.

**TABLA III. MICROINYECCIONES DE LCR-p EN EL FTG (2 ul)**

	n	$\bar{X}$	EE	% de cambio	t	p
CONTROL	9	29.4	2.8	0		
LCR-p	9	39.6	2.4	34.6	3.88	0.005

Tabla III.- El LCR de donador privado de SP, inyectado en el FTG, origina un incremento en la frecuencia de las espigas PGD. Este aumento es estadísticamente significativo.

Densidad promedio de PGO  
LCR-p en FTG

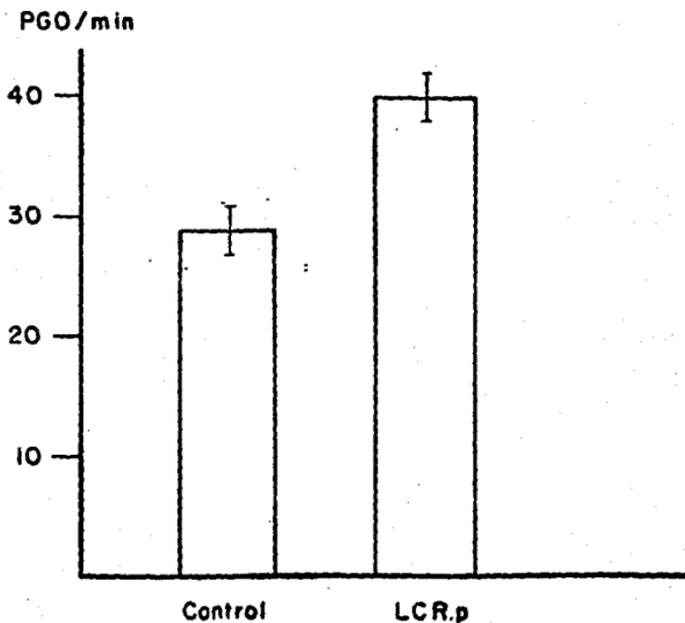


Fig. 15 La inyección de LCR de donador privado de SP en el FTG, provoca un aumento en el número de potenciales PGO por minuto. El cambio es estadísticamente significativo.

Curso temporal del % de cambio de la actividad PGO provocado por el LCR-p en el FTG (2  $\mu$ l)

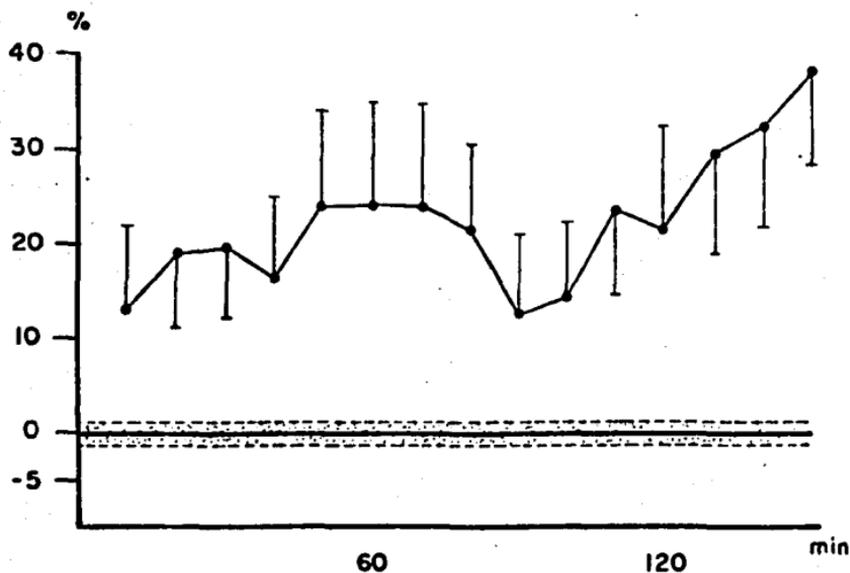


Fig. 16 La inyección de LCR-p en el FTG provoca incremento en la frecuencia de las espigas PGO. El incremento se da inmediatamente después de la inyección y se mantiene cercano al 20% durante dos horas, alcanzando casi un 40% de aumento sobre el valor control a las dos horas y media.

## Grupo II

### Subgrupo 2.- Microinyecciones de LCR de donador no privado de BP en el FTG.

Se utilizaron 6 gatos, a los que les fueron inyectados 2  $\mu$ l de LCR-no p en el FTG, para tratar de comprobar que los resultados obtenidos en el subgrupo anterior no fueron causados por la manipulación sino por el líquido cefalorraquídeo de donadores privados de sueño paradójico.

El registro control en este caso fue tomado también durante 70 minutos, mostrando una frecuencia de 26.6  $\pm$  3.3 potenciales PGD por minuto. Después de inyectar se registró durante 120 minutos, obteniéndose una frecuencia de 25.1  $\pm$  3.1 espigas por minuto, aproximadamente el 6% menos que en el control, lo que indica claramente que no se originó cambio al inyectar LCR-no p en el FTG. Este ligerísimo decremento del -5.8% no es significativo ( $t=1.52$ ) (tabla IV).

La figura 17 muestra la densidad de espigas PGD control y con LCR de donador no privado. La figura 18 muestra los cambios con respecto al control, los cuales no son significativos. En la fig 19 pueden observarse comparativamente los cambios provocados sobre la frecuencia de las espigas PGD mediante la inyección de LCR-p y LCR-no p en el FTG. Se observa que el LCR-no p no origina cambios significativos, mientras que el LCR-p provoca un incremento estadísticamente significativo sobre la frecuencia basal de las espigas PGD. Esto es similar a lo observado al inyectar LCR en el III ventrículo.

La figura 20 nos muestra los sitios de microinyección en FTG. Las microinyecciones fueron hechas en el sitio deseado, es decir, en el campo tegmental gigantocelular, en el nivel 6.0 posterior según el atlas de Berman (1968).

**TABLA IV. MICROINYECCIONES DE LCR-no p EN EL FTG (2 ul)**

	n	$\bar{X}$	EE	% de cambio	t	p
CONTROL	6	26.6	3.3	0		
LCR-no p	6	25.1	3.1	-5.8	1.52	NS

Tabla IV. El LCR de donador no privado de SP, inyectado en el FTG, no origina cambios significativos en la frecuencia de la actividad PGO.

Densidad promedio de PGO  
LCR no p en FTG

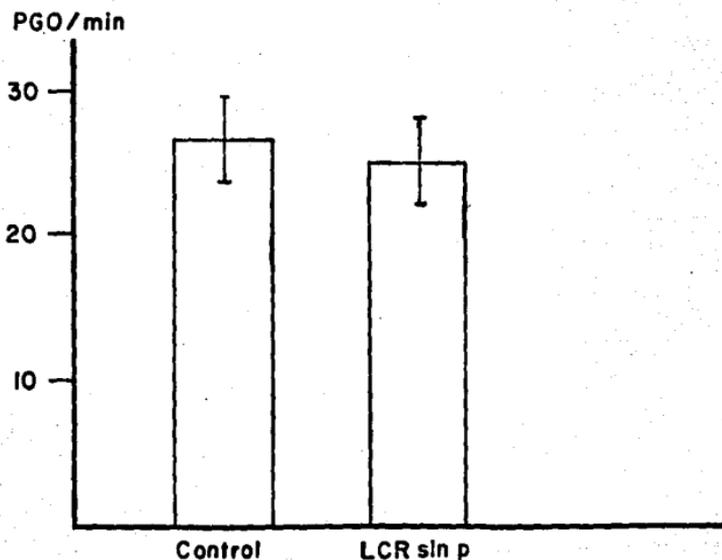


Fig. 17 El número de los potenciales PGO por minuto observados después de inyectar LCR de donador no privado de SP en el FTG. es muy similar al obtenido en el registro control. El cambio no es significativo.

LCR sin privación  
FTG

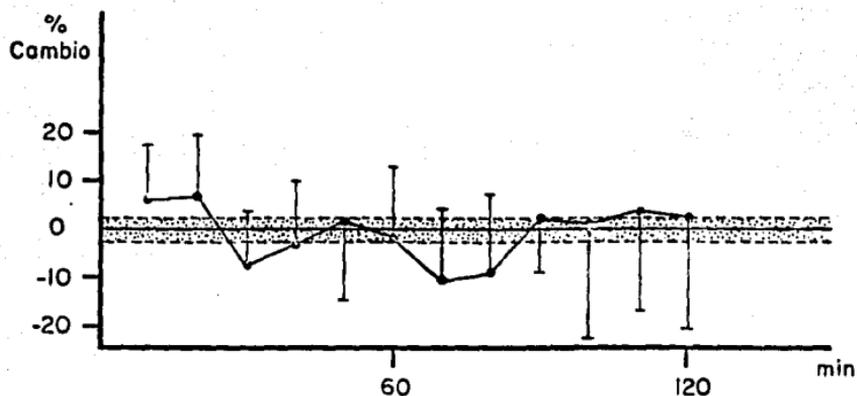


Fig. 18 Los cambios observados después de inyectar LCR de donador no privado en el FTG, son tan pequeños e inconsistentes que evidentemente no son significativos.

### Microinyecciones en FTG

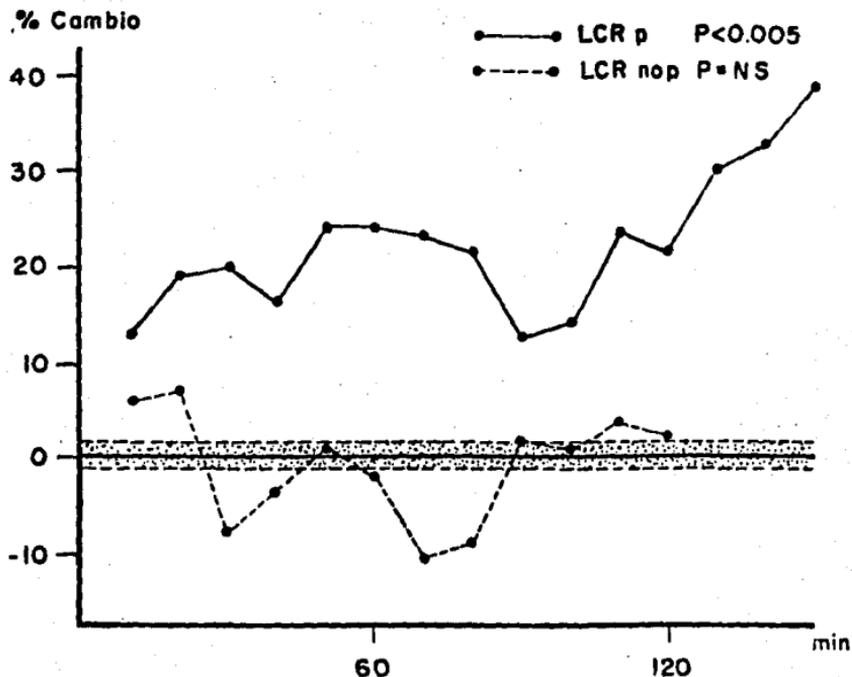


Fig. 19 Se observa claramente que el LCR-p inyectado en el FTG, provoca un incremento inmediato, duradero y estadísticamente significativo sobre la frecuencia de las espigas PGO, mientras que el LCR-nop no origina cambios significativos.

## Sitios de inyección LCR-FTG

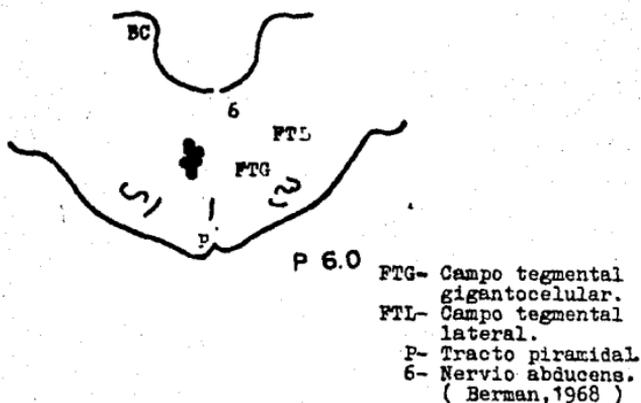


Fig. 20 Esquema de un corte transversal del tallo cerebral de gato.

El análisis histológico mostró que todas las inyecciones de LCR en el FTG quedaron bien situadas. Los puntos representan los sitios en donde se aplicó el LCR.

**Grupo III.- Microinyecciones de LCR de donador privado de SP  
en el Area X.**

Se utilizaron 5 gatos, a los que se les inyectaron 2  $\mu$ l de LCR-p en el AX, con el fin de estudiar si el área X es, o no, un sitio de acción del LCR-p, por lo menos para los efectos sobre las espigas PGO.

El registro control, tomado durante 90 minutos, mostró un promedio de 24.7 +/- 5.3 espigas/minuto; después de inyectar registramos durante 130 minutos, observando una frecuencia de 25.4 +/- 5.7 espigas PGO/minuto. Este cambio corresponde al 2.9 % de incremento, que no es significativo ( $t=0.51$ ). (Tabla V).

En la fig.21 podemos comparar la frecuencia de los potenciales PGO antes y después de inyectar LCR-p en el área X.

Los porcentajes de cambio respecto al control se muestran en la figura 22. Los cambios observados son pequeños durante todo el registro posterior a la inyección; el LCR-p inyectado en el área X no provocó cambios estadísticamente significativos.

En este grupo no se realizaron comparaciones con la microinyección de LCR de animales no privados de SP debido a que no observamos modificaciones.

Los sitios de microinyección en el área X se muestran en la figura 23. Las inyecciones se hicieron todas en área X, tanto en la parte anterior como en las partes media y posterior, observándose que dos gatos recibieron LCR en el AX a nivel 2.1 posterior y los otros tres gatos fueron inyectados en el AX a nivel de 1.6 anterior, 0.2 posterior y 0.9 posterior (Atlas de Berman, 1968).

TABLA V. LCR-p EN EL AREA X (2 ul)

	n	$\bar{X}$	EE	% de cambio	t	p
CONTROL	5	24.7	5.3	0		
LCR-p	5	25.4	5.7	2.0	0.51	NS

Tabla V. El LCR de donador privado de SP, inyectado en el area X, no provoca cambios en la frecuencia de los potenciales PGO.

Densidad promedio de PGO  
LCR-p en A-X

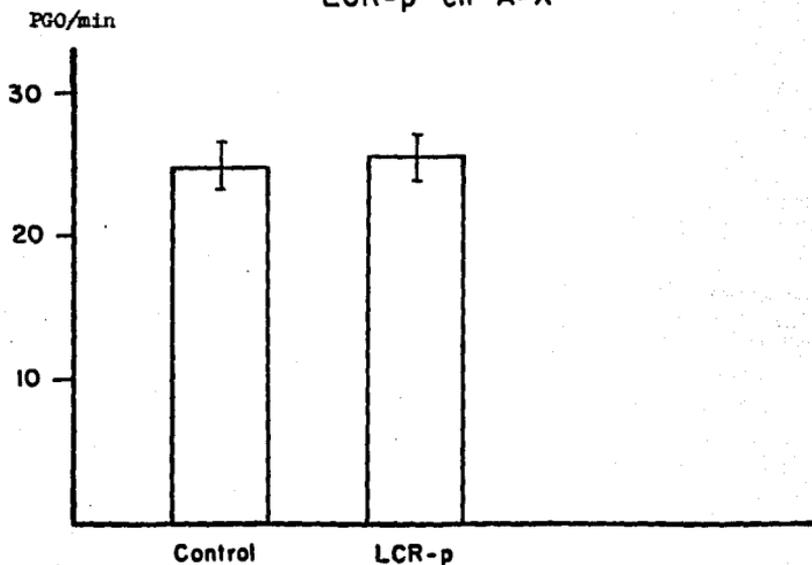


Fig. 21 Puede observarse que la frecuencia de los potenciales PGO no se modifica después de inyectar LCR-p en el área X.

### LCR-privación AX

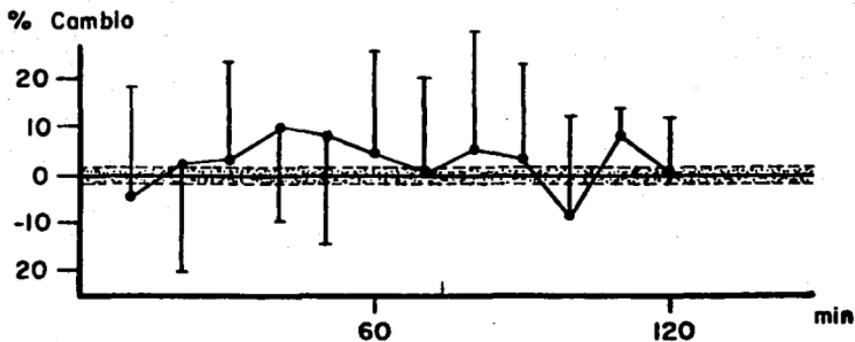
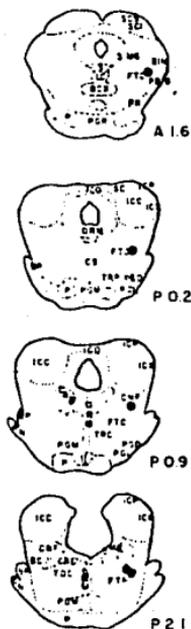


Fig. 22 La inyección de LCR de donador privado de SP en el área X no provocó cambios significativos en la frecuencia de los potenciales FGO.

Sitios de microinyección  
de LCR en Ax



5MG: Núcleo trigeminal  
mesencefálico.  
BIN: N. del brazo con-  
juntivo del colículo  
inferior.  
PBG: N. parabigeminal.  
LC: Locus coeruleus.  
BCX: Brazo conjuntivo.  
PGR: División rostral  
pontina gris.  
P: Tracto piramidal.  
DRM: Rafe dorsal.  
CS: N. del rafe cen-  
tral superior.  
TV: N. ventral de Gudden.

Fig. 23 El análisis histológico mostró los sitios del tallo cerebral en donde se realizaron las microinyecciones de LCR en área X, desde el nivel 1.6 anterior hasta el nivel 2.1 posterior; es decir, se hicieron todas dentro de la región deseada.

## RESUMEN DE LOS RESULTADOS

### ANALISIS COMPARATIVO DE LAS MICROINYECCIONES DE LCR-p Y LCR-no p EN III VENTRICULO, FTG y AREA X.

La figura 24 muestra los resultados globales obtenidos. Como puede apreciarse, al inyectar LCR de donador privado de SP, tanto en el III ventrículo como en el FTG, se da un incremento en la frecuencia de la actividad PGD, siendo estos cambios estadísticamente significativos ( $P < 0.05$  y  $P < 0.005$  respectivamente).

La inyección de LCR-no p en el III ventrículo y en el FTG causa un ligero decremento en la actividad PGD, cambio que no es estadísticamente significativo, es decir, está dentro de las variaciones posibles debidas al azar.

El LCR de donador privado de SP inyectado en el Area X no provocó cambios en la actividad PGD, por lo que consideramos innecesario inyectar en esta estructura el LCR de donador no privado.

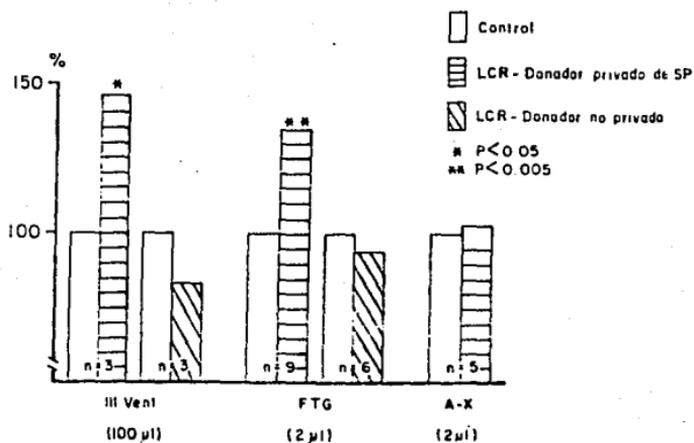


Fig. 24 El LCR de donador privado de SP provocó un incremento estadísticamente significativo en la frecuencia de la actividad PGO, tanto inyectado en el tercer ventrículo, como en el FTG; en cambio, inyectado en el área X no modifica esa actividad.

El LCR-no pno originó cambios estadísticamente significativos en la frecuencia de los potenciales PGO.

## H) DISCUSION Y CONCLUSIONES

Nos parece confiable suponer que los resultados obtenidos en los grupos uno y dos sean debidos a un posible factor inductor de sueño paradójico presente en el líquido cefalorraquídeo de animales privados de esa fase de sueño, ya que la inyección de LCR de donadores no privados no causó cambios en la frecuencia de la actividad PGD, por lo que también podemos pensar que los cambios observados no se debieron a la manipulación (introducción de cánula, presión provocada por el LCR, traumatismo, etc.).

La inyección en el III ventrículo, al bañar todo el tallo cerebral, nos permitió conocer el efecto del LCR proveniente del donador privado (incremento en la frecuencia de la actividad PGD-r), pero sin que supieramos en que sitio o región específica actúa. Los resultados parecen indicar que el FTG puede ser, o estar relacionado con el sitio de acción del factor de SP presente en el LCR, no así el área X, ya que al inyectar aquí LCR-p no se obtuvo ningún cambio en la actividad PGD, por lo que suponemos que el área X probablemente no es un sitio de acción del factor de SP del LCR-p.

Cabe mencionar que dos de los nueve gatos inyectados en el FTG con LCR-p, en los que se observó incremento en la frecuencia de los potenciales PGD, previamente (dos horas antes) habían sido inyectados en el área X también con LCR-p sin mostrar aquí ningún efecto, lo que nos permite mayor seguridad en cuanto al posible sitio de acción del LCR-p.

Por otro lado, dos de los seis gatos inyectados en el FTG con LCR-no p y que no mostraron cambios en la frecuencia de espigas PGD, fueron posteriormente inyectados en ventrículo, en donde tampoco se originaron cambios, haciendo suponer que en realidad ese líquido no tiene ningún efecto sobre las PGD-r, cualquiera que sea el lugar en el que se inyecte.

Si bien podría argumentarse que los efectos observados pueden

deberse de algún modo a factores originados por el stress inducido por el método de privación de SP y no a la privación de SP en sí, consideramos que la habituación a que fueron sometidos los animales antes de la privación, disminuye en cierta medida esa posibilidad; además, nuestros animales donadores de LCR-no p estuvieron en condiciones similares a los que sufrieron la privación, con la única diferencia de que la plataforma sobre la que fueron colocados era un poco más grande, lo que les permitía dormir en SP. Esta condición, que sin duda también era causante de stress, no provocó cambios apreciables y en ningún modo fueron cambios semejantes a los provocados por el LCR de donadores privados de SP, ya que al contrario de lo observado en esos casos, la microinyección de LCR-no p dió como resultado un decremento no significativo en la frecuencia de la actividad PGO.

Por otro lado, Altmann (1972) reporta que el stress aumenta el sueño lento y disminuye el SP, mientras que en nuestro experimento las PGO son incrementadas.

Borbély (1979) reporta que la infusión cerebroventricular de LCR en la rata disminuye el SP, dato que parece acorde con lo que observamos al inyectar en el III ventrículo LCR-no p.

Nuestros resultados están de acuerdo con lo reportado por:

Manjarrez y col. (1985), quienes reportan que la lesión del área X suprime las PGO-r del núcleo geniculado lateral, pero no las del VI par craneal ni las de la corteza occipital, concluyendo que el AX es importante sólo para la transmisión de información hacia el NGL y que, probablemente, no sea esta región generadora de las espigas PGO.

Mora y col. (1986), inyectando ácido Kainico (un neuroexcitotóxico), descartan al Área X como generador de las espigas PGO, ya que encuentran una disminución no significativa en la frecuencia de estas espigas, mientras que al aplicarlo en el FTG, a nivel del VI par (6.5 P), observan un incremento significativo del 55.13%.

Díaz y col. (1986), basados en la propuesta de Sakai (1985) de

que las células del AX generan la actividad PGO por un mecanismo colinérgico (ya que encuentra células marcadas positivamente para las enzimas que degradan y sintetizan la acetilcolina), inyectan carbacol (agonista colinérgico) en el Área X, encontrando un efecto tardío y no significativo (aumento del 12% a las 3 horas), mientras que al inyectarlo en el FTG observan un aumento significativo del 85.8% sobre la línea basal, por lo que sugieren al FTG o estructuras cercanas a él como posible generador de la actividad PGO.

Bello y col. (1987), reportan que las transecciones de tallo cerebral indican que la región generadora de las espigas PGO se encuentra caudal al mesencefalo y anterior al bulbo, a nivel pontino, más específicamente en la región anterior del VI par (2 a 3 mm).

Así, parece que el FTG participa en la generación de la actividad PGO del SP, mientras que el área X podría ser sólo una vía de paso o núcleo de relevo de los potenciales PGO registrados en el NGL.

Nuestros resultados apoyan la hipótesis (Sailanon, 1982 ; Adrien, 1984) de que algún factor inductor de SP se acumula en el LCR durante la privación de SP y sugieren que posiblemente ese factor actúe en el FTG, ya que el incremento en la frecuencia de los potenciales PGO-r observado con la microinyección en el III ventrículo se observa también con la aplicación tópica de LCR-p en el FTG. La inyección de LCR-p en el área X no provocó cambios en las PGO-r, por lo que creemos posible considerar que este no es un lugar donde actúe el LCR-p.

De acuerdo a lo anterior y con las reservas necesarias, podemos apoyar la hipótesis de Hobson, en la que propone al FTG como el sitio generador de la actividad PGO; consideramos que la hipótesis de Sakai, en la que sugiere que el área X es el sitio generador de las PGO, no está apoyada por los resultados que obtuvimos.

Aún cuando nos parece que nuestros resultados son claros,

sabemos que hace falta realizar microinyecciones en otros núcleos de la formación reticular para poder considerarlos o rechazarlos como posibles sitios de acción del factor de SP del LCR o bien tratar de investigar si se encuentran relacionados entre sí de alguna manera. También es necesario confirmar si el FTG pudiera ser responsable de los efectos provocados sobre el SP por el factor que se acumula en el LCR de animales privados de esta fase de sueño.

1).- REFERENCIAS.

- Adrien, J. y Dugovic, CH.: Presence of a paradoxical sleep (PS) factor in the cerebrospinal fluid of PS-deprived rats. European Journal of Pharmacology, 100: 223-226, 1984.
- Altmann, J. y Whithead, W.: Effects of five hours of restraint stress on subsequent sleep in the rat. Psychonom.Sci., 26: 152-154, 1972.
- Aserinsky, E. y Kleitman, N.: Regulatory occurring periods of eye motility on concurrent phenomena during sleep. Science, 118: 273-274, 1953.
- Aserinsky, E.: Periodic respiratory patterns occurring in conjunction with eye movements during sleep. Science, 67: 313-326, 1965.
- Bello, L., Wences, H., Manjarrez, J. y Alvarado, R.: Efectos sobre la actividad PGO del gato inducidos por transecciones del tallo cerebral. II Reunión Anual de Invest. I.N.N.N. México, 1987.
- Berger, H.: Über das Elektroencephalogramm des menschen. Arch. Psychiatr. Nervenkr., 87: 527-570, 1929.
- Berlucchi, G. y Col.: Pupil behavior and ocular movements during synchronized and desynchronized sleep. Arch. Ital. Biol., 102: 230-245. 1964.
- Berman, A.L.: The brain stem of the cat. A citoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates. The University of Wisconsin Press. London, 1968.
- Borbély, A. y Tobler, I.: Cerebroventricular infusion in the rats: Depression of motor activity and paradoxical sleep. Neurosci. Lett., 12: 75-80, 1979.
- Bobilier, P., Sakai, F., Seguin, S. y Jouvet, M.: The effect of sleep deprivation upon in vivo and in vitro incorporation of tritiated aminoacids into brain proteins in the rat at three different age levels. J. Neurochem., 22: 23-31, 1974.
- Bove-Anders, C., Adrien, J. y Roffwarg, H.P.: Ontogenesis of ponto-geniculo-occipital activity in the lateral geniculate

- nucleus of the kitten. Exp. Neurol.,43: 242-260, 1974.
- Brooks,D.C. y Bizzi,E.: Brain-stem electrical activity during deep sleep. Arch. Ital. Biol.,101: 648-665, 1963.
  - Brooks,D.C. y Gershon,M.D.: Eye movements potentials in the oculomotor and visual systems: A comparison in reserpine induced waves with those present during wakefulness and rapid eye movement sleep. Brain res.,27: 223-239, 1971.
  - Brooks,D.C. y Gershon,M.D.: An analysis of the effect of reserpine upon ponto-geniculo-occipital waves activity in the cat. Neuropharmacology,11: 499-510, 1972.
  - Brooks,D.C., Morgane,P.J. y Simon,R.P.: Brain stem serotonin depletion and ponto-geniculo-occipital wave activity in the cat treated with reserpine. Neuropharmacology,11: 511-520, 1972.
  - Cespuglio,R., Calvo,J.M., Musolino,R. y Valatak,J.: Activite phasique chez le rat. Physiol. Behav.,19: 589-596, 1977.
  - Cespuglio,R., Faradji,H., Gómez,M.E. y Jouvet,M.: Single unit recordings in the nuclei raphe dorsalis and magnus during the sleep waking cycle of semi-chronic prepared cats. Neurosci.Lett.,24: 133-138, 1981.
  - Cordeau,J.P., Moreau,A., Beaulnes,A. y Laurin,C.: EEG and behavioral changes following microinjections of acetylcholine and adrenaline in the brain stem of the cat. Arch. Ital. Biol.,101: 30-47, 1963.
  - Costin,A. y Hafemann,D.F.: Relationship between oculomotor nucleus and lateral geniculate body monophasic waves. Experientia (Basel),26: 972-973, 1970.
  - Delorme,F., Jeannerod,M. y Jouvet,M.: Effects remarquables sur l'activite EEG phasique ponto-geniculo-occipital. C.R.Biol. (Paris),159: 900-903, 1965.
  - Delorme,F. y Jouvet,M.: Supression du sommeil par la p-chloromethamphetamine et parachlorophenylalanine. C. R. Soc. Biol. (Paris),160: 2347, 1966.
  - Dement,W.C.: Experimental dream studies. Science and Psichoanalysis: Ed.Masserman. Grune & Stratton, New York, 1964.

- Dement, M.C. y Kleitman, N.: The relation of eye movements during sleep to dream activity. J. Exp. Psychol., 53: 339-346, 1957.
- Diaz, P.G., Mora, A., Manjarrez, J. y Alvarado, R.: Efecto del Carbacol en el AX: Acción sobre la actividad PGO en el gato. XXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. 174p. 1986.
- Dreyfus-Brisac, C.: Etude ontogénétique du sommeil chez le prématuré humain: Acta Paediat. Lat., 17: 697-709, 1964.
- Drucker-Colín, R.R.: Crossed perfusion of a sleep inducing brain tissue substance in conscious cats. Brain Res., 56: 123-134, 1973.
- Drucker-Colín, R. y Benitez, J.: Rem sleep rebound during withdrawal from chronic amphetamine administration is blocked by chloramphenicol. Neuroscience Letters, 6: 267-271, 1977.
- Drucker-Colín y Bernal-Pedraza, J.: Increasing PGO spike density by auditory stimulation increases the duration and decreases the latency of REM sleep. Brain Res., 278: 308-312, 1983.
- Drucker-Colín, R. y Próspero-García, O.: Gastropancreatic peptides and sensory stimuli as REM Sleep factor. Sleep peptides: Basic and Clinical Approaches. Inoue and Schneider (Eds.) Japan Scientific Society Press. Tokyo, Springer-Verlag. Heidelberg, 1987.
- Drucker-Colín, R. y Spanis, C.: Growth hormone effects on sleep and wakefulness in the rat. Neuroendocrinology, 18: 1-8, 1975.
- Drucker-Colín, R. y Spanis, C.: Neurohumoral correlates of sleep: increase of proteins during REM Sleep. Experientia, 31: 551-552, 1975.
- Drucker-Colín, R. y Zamora, J.: Modification of REM Sleep and associated phasic activities by protein synthesis inhibitors. Exp. Neurol., 63: 458-467, 1979.
- Dusan-Peyrethon, D.: Etude quantitative des phénomènes phasiques du sommeil paradoxal pendant et après sa déprivation instrumentale. C.R. Soc. Biol. (Paris), 161: 2530-2533, 1967.
- Ephron, H. y Carrington, P.: Rem sleep and cortical homeostasis: Theoretical considerations. Report to the Associations for the Psychophysiological study of sleep. (Washington, D.C.), 1965.

- Fisher, C.: Psychoanalytic implications of recent research on sleep and dreaming. J. Amer. Psychoanal. Ass., 13: 197-303, 1965.
- Gassel, M. y col.: Phasic changes and heart rate during the rapid eye movement episodes of desynchronized sleep in unrestrained cats. Arch. Ital. Biol., 102: 530-544, 1964.
- Greenberg, R. y Leiderman, P.: The relationship of dream images to daily perceptions and the implications for a possible theory of the physiologic functions of dreaming. Report to Association for the psychophysiological study of sleep. Palo Alto, USA. 1964.
- Hartmann, E.: The biology of dreaming. Ch. Thomas Pub. Springfield, 206. 1967.
- Hess, W.R.: Das Schafsyndrom als Folge diencephaler Reizung. Helv-Physiol. Pharmacol. Acta, 2: 305-344, 1944.
- Hobson, J.: L'activité électrique phasique du cortex et du thalamus au cours du sommeil désynchronisé chez le chat. Soc. Biol. Lyon: 2131-2135, 1964.
- Hobson, J.: 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, 1965.
- Hobson, J. y Mc Carley, R.: Selective firing by cat pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. J. Neurophysiol., 37: 497-511, 1974.
- Hobson, J.A.: The cellular basis of sleep cycle control. In: Advances in Sleep Research. Ed. E. Weitzman. Spectrum: 217-250, 1974.
- Hobson, J. y Mc Carley, R.: Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brain stem neuronal groups. Science, 189: 55-58, 1975.
- Hobson, J. y Mc Carley, R.: Locations and spike-train characteristics of cell in anterodorsal pons having selective decrease in firing rate during desynchronized sleep. J. Neurophysiol., 50: 770-783, 1983.
- Honda, K. e Inoué, S.: Establishment of a bioassay method for the sleep-promoting substance. Reports Inst. Med. Dent. Eng., 12: 81-85,

1978.

- Honda, K. e Inoué, S.: Effects of sleep-promoting substance on sleep-waking patterns of male rats. Reports Inst. Med. Dent. Eng., 15: 115-123, 1981.
- Honda y col.: Uridine as an active component of SPS: its effects on the nocturnal sleep in the rats. Neurosci. Res., 1. 1984.
- Honda y col.: Sleep-promoting effects of intraperitoneally administered uridine in unrestrained rats. Neurosci. Lett., 62: 137-141, 1985.
- Inoué, S. y Honda, K.: In 4th International Congress of Sleep Research. Abstracts, pp 212. 1983.
- Inoué, S. y col.: Little sleep-promoting effect of three sleep substances diurnally infused in unrestrained rats. Neurosci. Lett., 49: 207-211, 1984.
- Jeannerod, M. y Mouret, J.: Etude comparative des mouvements oculaires observés chez le chat au cours de la veille et du sommeil. J. Physiol. (Paris), 55: 268. 1963.
- Jeannerod, M.: Organization de l'activité électrique phasique du sommeil paradoxal. Etude électrophysiologique et neuropharmacologique. Thèse de Medicina. Lyon, 90, 1965.
- Jeannerod, M., Mouret, J. y Jouvét, M.: Effects secondaires de la deafferentation visuelle sur l'activité électrique phasique porto-geniculo-occipital du sommeil paradoxal. J. Physiol. (Paris), 57: 255-256, 1965.
- Jeannerod, M. y Kiyono, S.: Effects de la réserpine sur la réponse réticulaire aux stimulations sensorielles. Brain Res., 12: 129-137, 1969.
- Jones, B.: The double role of catecholamines in waking and paradoxal sleep. A neuropharmacological model. Ph.D. tesis. University of Delaware, 1970.
- Jones, B.: Hallucinating like behavior elicited in cats by elevation of catecholamines in the central nervous system. Psychophysiology, 7: 314, 1971.
- Jouvét, M. y Michel, F.: Correlations électromyographiques du

sommeil chez le chat décontique et mésencéphalique chronique,  
C.R.Soc.Biol.,153: 422-425, 1959 a.

- Juvet,M., Michel,F.: Sur un stade d'activité électrique  
cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique.  
Compt.Rend.Soc.Biol.,153: 1024-1028, 1959 b.

- Juvet,M.: Recherches sur les structures nerveuses et les  
mécanismes responsables des différentes phases du sommeil  
physiologique. Arch.Ital.Biol.,100: 125-206, 1962.

- Juvet,M.: Behavioral and EEG effect of paradoxal sleep  
deprivation in the cat. Proceedings of the 23rd International  
Congress of Physiological Sciences. Tokyo,4. Excerpta medica  
Internal. Congress series,87: 344-355, 1965.

- Juvet,M.: Neurophysiology of the state of sleep. Physiol.  
Rev.,47: 117-177, 1967.

- Juvet,M. y Astic,L.: Ontogenesis of the states of sleep in  
rat, cat and guinea pig during the first postnatal month.  
Develop. Psychobiol.,2: 216-239, 1970.

- Juvet,M.: The role of monoamines and acetylcholine containing  
neurons in the regulation of the sleep-waking cycle, Ergebn.  
Physiol.,64: 166-307, 1972 a.

- Juvet,M.: Some monoaminergic mechanisms controlling sleep and  
waking. Brain and Human Behavior. A.G.Karezmaz y J.C. Eccles,Eds.  
Springer-Verlag, New York: 131-161, 1972 b.

- Kanzow,E. y Krause,D.: Die Vasomotorik der Hirnrinde in den  
phase desynchronisierter EEG aktivitat im natürlichen Schlaf  
der Katze. Pflugers.Arch.Gen.Physiol.,274: 539-607, 1962.

- Miyono,S. y Jeannerod,M.: Relations entre l'activité geniculée  
phasique et les mouvements oculaires chez le chat normal et sous  
résérpine. C.R. Soc. Biol. (Paris),161: 1607-1611, 1967.

- Komoda,Y. y col.: Uridine, a sleep promoting substance from  
brainstems of sleep-deprived rats. Biomed.Res.,4: 223-227, 1983.

- Lrnjevic,K y Silver,A.A.: Histochemical study of cholinergic  
fibers in the cerebral cortex. J.Anat.,99: 711-759, 1965.

- Krueger,J. y Pappenheimer,J.: Sleep promoting factor S:

purification and properties. Proc.Natl.Acad.Sci.USA,75: 5235-5238, 1978.

- Krueger, J. y Garcia-Aransas, J.: Am.J.Physiol.,238: E116-E123, 1980. Int Sleep: Neurotransmitters and neuromodulators. Endogenous sleep factors. pp.319-329. Ed. by Wauquier et al. Raven Press. New York, 1985.

- Krueger, J. y Pappenheimer, J.: Sleep promoting effect of Muramyl peptides. Proc.Natl.Acad.Sci.USA,79: 6102-6106, 1982.

- Krueger, J. y col.: Peptidoglycans as promoters of slow-wave sleep II. Somnogenic and pyrogenic activities of some naturally occurring muramyl peptides; correlations with mass spectrometric structure determination. J.Biol.Chem. 1984.

- Laurent, J., Cespuglio, R. y Jouvet, M.: Elimination des voies ascendantes responsables de l'activité ponto-geniculo-occipitale chez le chat. Experientia,28: 1174-1175, 1972.

- Laurent, J., Cespuglio, R. y Jouvet, M.: Delimitation des voies ascendantes de l'activité ponto-geniculo-occipitale chez le chat. Brain res.,65: 29-52, 1974.

- Laurent, J. y Ayala, G.F.: Reversible supression of ponto-geniculo-occipital waves by localized cooling during paradoxical sleep in cats. Exp. Neurol.,49: 356-369, 1975.

- Legendré, R. y Pieron, H.: Le probleme des facteurs du sommeil. Resultats d'injections vasculaires et intracerebrales des liquides insomniaques. Crit.Rev.Soc.Biol. (Paris),68: 1077-1078. 1910.

- Legendré, R. y Pieron, H.: De la propriété hypnotoxique des humeurs développées au cours d'une veille prolongée. Comptes Rendues Soc. Biol.,72: 210-212, 1912.

- Loomis, A.: Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. J.Exp.Psychol.,21: 127-144, 1937.

- Malcolm, L. y Watson, J.: PGO waves as unity events. Brain Res., 24: 130-133, 1970.

- Manjarrez, J. y Alvarado, R.: 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. 1985.

- Martin, S. y Karnovsky, M.: Peptidoglycans as promoters of slow-wave sleep I. Structure of the sleep-promoting factor isolated from humane urine. J. Biol. Chem., 1984.

- Matsumoto, J y Jouvet, M.: Effects de reserpina, DOPA et 5HTP sur deux états de sommeil. Compt. Rend. Soc. Biol., 158: 2135-2139, 1964.

- Matsumoto, J. y Sogabe, K.: Sleep in parabiosis. Experientia, 28: 1043-1044, 1972.

- Melesio, N. y Ayala, G.F.: Filogenia del sueño: Peces y Anfibios. Bol. Estud. Méd. Biol. Méx., 32: 101-107, 1983.

- Mendelson, W. y col.: The effect of growth hormone administration on human sleep: a dose response study. Biol. Psychiatry, 15: 613-618, 1980.

- Mc Carley, R., Winkelman, J. y Duffy, F.: Human cerebral potentials associated with REM sleep: Links to PGO waves and waking potentials. Brain Research, 274: 359-364, 1983.

- Mc Ginty, D. y Harper, R.: 5-HT containing neurons: Unite activity during sleep. Sleep Research, 1: 27, 1972.

- Michel, R y col.: Sur les mecanismes 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, 1964.

- Mikiten, T. y Niebyl, P.: EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharge from the thalamus of the cat. Federation Proc., 20: 327, 1961.

- Monnier, M. y Koller, T.: Humoral influences of induced sleep and arousal upon electrical brain activity of animals with crossed circulation. Exp. Neurol., 8: 262-277. 1963.

- Monnier, M. y Hosli, L.: Dialysis of sleep and waking factors in blood of the rabbit. Science, 146: 797-798, 1964.

- Monnier, M. y Hosli, L.: Humoral transmission of sleep and wakefulness. II. Hemodialysis of a sleep inducing humor during stimulation of the thalamic somnogenic area. Pfluegers Arch., 282:

60-75, 1965.

- Monnier, M., Hatt, A. y Schoenenberger, G.: Humoral transmission of sleep. VI. Purification and assessment of a hypnogenic fraction of "sleep dialyzate" (factor delta). Pfluegers Arch., 331: 257-265, 1972.
- Monnier, M. y Bremer, F.: Biology of sleep. An interdisciplinary survey. Experientia, 36: Fasc. 1, 1-142, 1980.
- Mora, A., Diaz, P., Manjarrez, J. y Alvarado, R.: Análisis comparativo de los efectos agudos del ácido kainico en el Area X y en el campo tegmental gigantocelular sobre la actividad PGO. XXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, 174. 1986
- Moruzzi, G. y Magoun, H.: Brain stem reticular formation and activation of the EEG. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 1: 455-473, 1949.
- Moruzzi, G.: Sleep and instinctive behavior. Arch. Ital. Biol., 107: 175-216, 1969.
- Moruzzi, G.: The sleep waking cycle. Ergeb. der. Physiol., 64: 1-65, 1972.
- Mouret, J., Jeannerod, M. y Jouvet, M.: L'activité électrique du système visuel au cours de la phase paradoxale du sommeil chez le chat. J. Physiol., Paris, 55: 305-306, 1963.
- Nagasaki, H. e Inoué, S.: The presence of a sleep promoting material in the brain of sleep-deprived rats. Proc. Jap. Acad., 50: 241-246, 1974.
- Newman, E. y Evans, C.: Human dream processes as analogous to computer programme clearance. Nature (Lond.), 206: 534. 1965.
- Oswald, I.: Human brain protein, drugs and dreams. Nature, 223: 893-897, 1969.
- Pappenheimer, J. y col.: Sleep promoting effects of cerebrospinal fluid from sleep-deprived goats. Proc. Nat. Acad. Sci., 58: 513-517, 1967.
- Pappenheimer, J. y col.: Extraction of sleep promoting factor S from cerebrospinal fluid and from brains of sleep deprived animals. J. Neurophysiol., 38: 1299-1311, 1975.

- Pellet, J.: Etude de l'activité électrique phasique du cortex du cervelet au cours des états de veille et de sommeil. Arch. Ital. Biol., 112: 163-195, 1974.
- Periachio, A.A.: Genuiculate spike activity primate sleep and wakefulness. Abstract Sleep Res., 2: 42, 1973.
- Pieron, H.: Le problème physiologique du sommeil. Masson. Paris, 520, 1912.
- Polc, P. y Schoennenberger, J.: Effect of the delta sleep inducing peptide (DSIP) on the sleep-wakefulness cycle of cats. Neurosci.Lett., 9: 33-36, 1978.
- Prospéro-García, D. y col.: Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and cerebrospinal fluid (CSF) of sleep deprived cats restores rem sleep in insomniac recipients. Brain Res., 385: 169-173. 1986.
- Prospéro-García y col.: Cerebroventricular infusion of cholecystokinin (CCK-B) restores rem sleep in PCPA pre-treated cats. Neurosci.Lett., 78: 205-210. 1987.
- Puizillout, J. y Ternaux, J.: Phase de sommeil á ondes lentes avec décharges phasiques. Leur déclenchement par la stimulation vago aortique. Rev. EG. Neurophysiol., 3: 21-37, 1973.
- Roffwarg, H. y Musio, H.: Ontogenetic development of the human sleep cycle. Science, 152: 604-618, 1966.
- Roffwarg, H. y Adrian, J.: Central and peripheral REM sleep activity in the auditory system of the cat. In: M.H. Chase, D.F. Kripke and P.J. Walker Eds., Sleep Research, 8. UCLA, Los Angeles, 35. 1979.
- Sakai, K., Petitjean, F. y Jouvet, M.: Effects of pontomesencephalic lesions and electrical stimulation upon PGO waves and EMP's in unanesthetized cats. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 41: 49-63, 1976.
- Sakai, K.: Some anatomical and physiological properties of pontomesencephalic tegmental neurons with special reference to PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. In the reticular formation revisited (Ed. J.A. Hobson y M.A.

Brazier), Raven Press:New York: 427-447, 1980 a.

- Sakai, K. y Jouvett, M.: Brain stem PGD-on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. Brain Res., 194: 500-505, 1980 b.
- Sakai, K.: Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. Brain mechanisms of sleep. D.J.Mc Ginty y al. Raven Press ed.: 101-137, 1985.
- Sallanón, M. y col.: Restoration of paradoxical sleep by cerebrospinal fluid transfer to PCPA pretreated insomniac cats. Brain research, 251: 137-147, 1982.
- Salzarulo, P. y col.: Direct depth recordings of the striate cortex during REM sleep in man: are there PGD potentials. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 38: 199-202, 1975.
- Sassin, J y col.: Effects of slow wave sleep deprivation in human growth hormone-release in sleep: preliminary study. Life Sci., 8: 1299-1307, 1969.
- Schoenenberger, G. y Monnier, M: Characterization of a delta-electroencephalogram (sleep) inducing peptide. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 74: 1282-1286. 1977.
- Snider, R.S. y Niemer, W.T.: Stereotaxic atlas of the cat brain. The University of Chicago press, 1960.
- Snyder, F.: The new biology of dreaming. Arch.Gen.Psychiatry, 8: 381, 1963.
- Snyder, F.: Toward and evolutionary theory of dreaming. Presentación a la Asociación Psiquiátrica Americana. Atlantic City. 1966.
- Serman, M.: Circadian sleep and waking patterns in the laboratory cat. Electroenceph.Clin.,Neurophysiol., 19: 509-617, 1965.
- Stern, W. y col.: Effects of growth hormone on sleep-waking patterns in cats. Horm.Behav., 6: 189-196, 1975.
- Takahashi, Y. y col.: Growth hormone secretion during sleep. J.Clin.Invest., 47: 2079-2090, 1968.
- Thomas, J. y Benoit, O.: Individualisation d'un sommeil a ondes

- lentes et activité phasique. Brain Res.,5: 221-235, 1967.
- Ueno, R. y Honda, K.: Prostaglandin D2, a cerebral sleep-inducing substance in rats. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80: 1735-1737, 1983.
  - Valleala, P.: The temporal relation of unit discharge in visual cortex and activity of the extraocular muscles during sleep. Arch. Ital. Biol., 105: 1-15, 1967.
  - Valleala, P.: Pontine gigante cellular field neuron activity time-locked with the PGO waves in the transitional phase of sleep in the cat. Medical Biology, 57: 357-361, 1979.
  - Vimont-Vicary y Jouvet, D.: Effects EEG et comportementaux des privations de sommeil paradoxal chez le chat. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 20: 439-449, 1966.
  - Vivaldi, Mc Carley y Hobson, J.A.: Evocation of desynchronized sleep signs by the pontine brain stem. In: Hobson, J.A.-Brazier, M.A. Eds. The reticular formation revised: Specifying function for a non specific system. RAVEN IBRO Monogr. Serv. New York, 6: 513-529. 1980.
  - Weiss, T.: Discussion of the D-state for Hartmann. J. Psychiat., 2: 32-36, 1966.
  - Wexler, D. y Moore-Ede, M.: Am. J. Physiol. 1984. In: Sleep: Neurotransmitters and neuromodulators. Endogenous sleep factors. pp.319-329. Ed. by Wauquier et al. Raven press, New York. 1985.
  - Wyatt, R.J.: The serotonin-catecholamine dream bicycle: A clinical study. Biol. Psychiat., 5: 33-63, 1972.
  - Zhai, Sen y Karnovsky, M.: Qualitative detection of Muramic acid in normal mammalian tissues. Infect. and Immunity, 43: 937-941, 1984.