



7
22
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTOS AGUDOS DE LA MICROINYECCION DE
ACIDO KAINICO EN LA FORMACION RETICULAR
BULBAR SOBRE LA ACTIVIDAD PGO
DEL GATO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

RAFAEL AMEZCUA LOPEZ

MEXICO, D. F.

1991.

VENIS CON
FALSA ORIGIN



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

1 RESUMEN	8
2 INTRODUCCION	8
3 SUEÑO PARADOJICO	11
4 ACTIVIDAD PONTO GENICULO OCCIPITAL	13
5 ANATOMIA BULBAR	15
6 ANATOMIA DE LA FORMACION RETICULAR BULBAR	17
7 ASPECTOS TEORICOS DEL ACIDO KAINICO	20
8 FORMACION RETICULAR BULBAR Y SUEÑO PARADOJICO ...	22
9 PROBLEMA	27
10 OBJETIVOS	28
11 MATERIALES Y METODOS	29
12 RESULTADOS	39
13 DISCUSION Y CONCLUSIONES	55
14 BIBLIOGRAFIA	59

1 RESUMEN

Como parte de los eventos fásicos que se registran dentro de la fase del sueño paradójico (SP) es la actividad ponto-genículo-occipital (PGO) un potencial de campo, que tiene un voltaje de 200-300 μV y una duración de 100 ms y se presenta de manera aislada o en grupos. Se registra en el puente, en el núcleo geniculado lateral (NGL) y en la corteza occipital. Previamente se observó en el laboratorio que la microinyección de ácido kainico (AK) en la FRB disminuye la frecuencia de espigas PGO (Mora, 1987) y en otro estudio se valoró la frecuencia de espigas PGO seguida de la sección coronal que deaferenta a la FRB, lo cual produce un aumento de la frecuencia de espigas (Bello, 1987) en preparación experimental aguda en gatos. Con base a estos resultados se propone a la FRB inhibidora de la actividad PGO. En este estudio se analiza con mayor detalle la participación de la FRB sobre las espigas PGO por medio de la estimulación con AK, por lo que se realizó tanto microinyecciones unilaterales como bilaterales en dicha estructura. Por otra parte, debido a la contigüidad de los núcleos del rafe bulbar y la posible difusión del AK, también se valora la participación de esta región.

Los datos obtenidos muestran que la microinyección de AK en la FRB disminuye significativamente la frecuencia de espigas PGO. Este efecto se observó tanto con la microinyección unilateral como bilateral. En la segunda parte del estudio se comparó el efecto agudo excitatorio del AK en la FRB y en los núcleos del rafe bulbar (NRB), los datos obtenidos muestran que NRB no participan en el efecto inhibitorio de la frecuencia de espigas PGO. Nuestros resultados muestran que la excitación con AK de la FRB disminuye la frecuencia de espigas PGO, lo que concuerda con los trabajos previos,

de Mora (1987) quien encuentra una inhibición de la actividad PGO al excitar la FRB con AK y Bello (1987) deafe-
rentando al bulbo del cerebro anterior por medio de una se-
cción coronal produce un aumento de espigas PGO. Con base
a lo anterior, se propone a la FRB como inhibidor de los
centros pontinos generadores de la actividad PGO. No se
observó modificación significativa de la actividad PGO
con la microinyección de AK en los núcleos del rafe bul-
bar. Lo cual permite descartar a influencia de estos núcleos
en la actividad PGO. De los resultados obtenidos concluimos
lo siguiente: que la FRB participa en la regulación de
la actividad PGO. La estimulación provocada por el AK en la
FRB produce una disminución de esta actividad sobre los
generadores rostrales en condiciones experimentales agudas.
Los NRB no participan en la regulación de la actividad PGO.

2 INTRODUCCION

Desde la prehistoria, el sueño adquiere un carácter místico lleno de simbolismos, donde las ensoñaciones son puertas entre el presente y el futuro, entre la vida y la muerte y entre los hombres y los dioses.

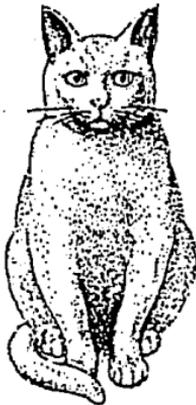
Fueron los griegos, principalmente Platón en su República, quienes comenzaron a pensar que los sueños podrían ser una situación de locura transitoria y benigna. Como señala Hartmann (1967), esta idea retomada por Freud le sirvió para establecer un esquema teórico de la organización del pensamiento, involucrando procesos primarios (los sueños y la psicosis) y los procesos secundarios conscientes. Como se sabe, Freud estableció la hipótesis de que el estudio cuidadoso de los sueños nos ilustra sobre los pensamientos y deseos inconscientes del individuo. En un principio, las investigaciones proponían que las ensoñaciones sucedían al azar en cualquier momento en el transcurso del sueño y en brevísimos instantes y muchas veces desencadenados por estímulos ambientales. Sin embargo, ahora sabemos que las ensoñaciones corresponden a una etapa particular del sueño, cuyas manifestaciones poligráficas y neurológicas son distinguidas del resto del sueño.

El estudio científico del sueño comienza en los años veinte con los trabajos de Von Economo (1929), a través de correlaciones anatomopatológicas en casos de hipersomnia y de agitación con insomnio, proponiendo "centros" para la vigilia (núcleo supraquiasmático e hipotálamo anterior) y para el sueño (tálamo caudal y mesencéfalo). Aserinsky y Kleitman (1953) muestran que los movimientos oculares, ensoñaciones, desincronización del electroencefalograma

(EEG) y taquicardia ocurren simultáneamente durante el sueño. Oswald (1962), Jouvet (1962), Snyder (1963) y Dement (1964) propusieron de manera independiente la naturaleza dual del sueño.

Dement (1964) muestra la asociación de los movimientos oculares rápidos con una fase característica del EEG que difiere del resto del sueño, a esta fase se le denomina sueño paradójico (SP), además, encontró que los episodios de SP representan del 20 a 25 % del sueño total.

Las definiciones convencionales de vigilia, SOL y SP se basan en tres variables principalmente: el EEG, el electrooculograma (EOG) y electromiograma EMG (figura 1).



ESTADO VIGIL



SUEÑO LENTO



SUEÑO PARADOJICO

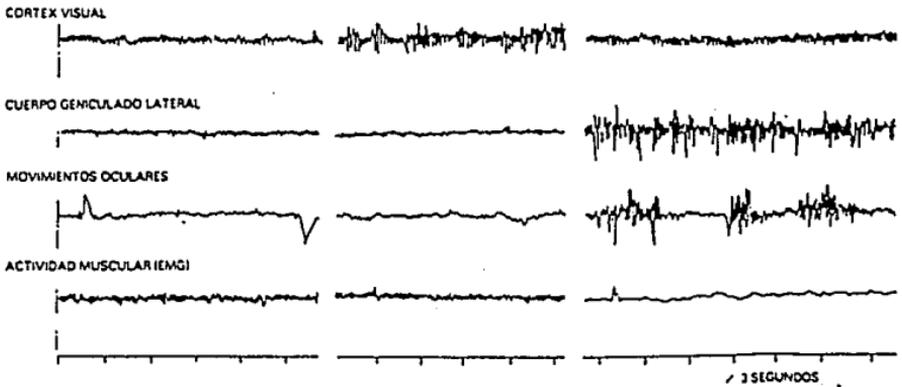


Fig 1.- Se muestran los principales cambios en el EOG, EEG, EMG, y la actividad PGO que permiten reconocer diferentes fases del ciclo sueño-vigilia en el gato.

Dibujo tomado del libro El cerebro científico american Ed. 1981

3 EL SUEÑO PARADOJICO

La fase de SP se caracteriza por los siguientes cambios neurofisiológicos:

- 1.- Desincronización del patrón EEG cortical.
- 2.- Ritmo theta en el hipocampo.
- 3.- Atonía de los músculos posturales.
- 4.- Potenciales de campo en el puente, núcleo geniculado lateral y corteza occipital (espigas PGD).
- 5.- Movimientos oculares rápidos.
- 6.- Contracciones mioclónicas, más aparentes en la cara y en la musculatura de los miembros.
- 7.- Fluctuaciones cardiovasculares.

El estudio del SP se inició con experimentación basada en el uso de lesiones y estimulaciones en regiones específicas del cerebro, con el fin de determinar los sitios activadores. La transección mesencefálica permitió la aparición de eventos asociados al SP en la parte caudal y no en el cerebro anterior (Jouvet 1962).

La transección a nivel cervical no altera los patrones de sueño (Adey et al., 1968).

De acuerdo con el modelo de interacción recíproca del control del ciclo de sueño se propone a las células del campo tegmental gigantocelular (CTG) de la formación reticular pontina como parte central del sistema que controla el SP por activación colinérgica (Hobson, 1974; Steriade et al., 1976), las células del CTG reciben influencia inhibitoria monoaminérgica de los núcleos del rafe (Lydic, et al. 1983).

En la región del puente dorsolateral (Jones et al., 1988), se encontró una relación positiva entre las neuronas acetilcolina-inmunoreactivas y los eventos del SP principalmente con la actividad PGO, además se reportó una relación no sólo con el volumen de lesión sino también con el número de neuronas acetilcolina-inmunoreactivas. Por otra parte, no se encuentra una relación con el número de neuronas tirosina hidroxilasa-inmunoreactivas.

De acuerdo con estas evidencias, las neuronas colinérgicas localizadas en el tegmento mesopontino que proyectan al cerebro anterior y hacia la FRB, se han propuesto como las responsables de la integración y generación de los eventos del SP.

4. ACTIVIDAD PONTO GENICULO OCCIPITAL.

La primera descripción sobre la actividad PGO fue hecha por Jouvét y Michel (1959) al registrar la formación reticular pontina durante el SP descritos como potenciales monofásicos de 200-300 μ V y 100 ms de duración, posteriormente se registraron en el NGL (Mikiten et al., 1961) y en la corteza occipital (Mouret et al., 1963). Después se registraron en otros sitios donde la actividad PGO se presenta con menor amplitud en los núcleos del III, IV y VI pares craneales (Costin y Hafemann, 1970; Cespuglio et al., 1975; Roffwarg et al., 1979), el cerebelo (Jeannerod et al., 1965), la corteza auditiva, el núcleo del V par craneal (Roffwarg y col, 1979) y en estructuras talámicas (Hobson, 1964).

La actividad PGO nunca ocurre durante la vigilia, y sólo se presenta en forma periódica durante la etapa II del SOL (Thomas y Benoit, 1967).

La actividad PGO siempre precede a los demás eventos del SP. Los potenciales PGO pueden presentarse aislados, en pares y en salvas de más de 5 potenciales separados por intervalos de 100 mseg o menos.

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.

Bizzi y Brooks (1963) describen que la actividad PGO registrada en el NGL y en la corteza occipital se origina en el puente y no depende de las vías visuales (retina y tracto óptico) o de la corteza visual. La estimulación pontina provoca la aparición de espigas PGO en el NGL virtual

mente idénticas a las que ocurren durante el SP y además no son alteradas con la oscuridad, enucleación de ojos, corte del tracto óptico y con la remoción de la corteza visual.

El papel crítico del puente en la generación de espigas PGO es subsecuentemente confirmado; la lesión completa del puente suprime la actividad PGO en el NGL y en la corteza (Hobson, 1965). Bello (1987) encuentra que la sección coronal a nivel pontino suprime la actividad PGO en el NGL pero no en el puente (VI par). El área dorsal al brachium conjunctivum y ventral al núcleo cuneiforme, denominada "Area X" (AX) se propuso área generadora de espigas PGO (Sakai et al. 1976). Sin embargo, Manjarez et al., (1985) mostraron que la lesión electrolítica del AX suprime los potenciales PGO del NGL, pero no los del VI par ni los de la corteza occipital, concluyendo que el AX es importante para la transmisión de la actividad PGO hacia el NGL, pero no es el sitio de generación de la actividad PGO.

5 ANATOMIA BULBAR

El bulbo (Mielencéfalo) es la parte más caudal del tallo cerebral, de forma cónica. El límite rostral se marca claramente en la superficie ventral por el borde del puente y en la superficie dorsal por la línea que pasa por los bordes inferiores de los pedúnculos cerebelosos medios.

El límite en su parte caudal se encuentra en la parte más alta de la raíz del primer nervio cervical casi a nivel del foramen magnum.

Si la médula espinal presenta una relativa uniformidad en su organización interna, el bulbo presenta cambios importantes entre un nivel y otro.

Los cambios que se presentan son los siguientes:

- 1.- Desarrollo del cuarto ventrículo, que representa la continuación rostral del canal central de la médula espinal.
- 2.- El extenso arreglo celular y la interacción de fibras que constituye la formación reticular que forma parte en la médula espinal como asa central.
- 3.- La decusación de las pirámides.
- 4.- La terminación de las fibras ascendentes de primer orden continuando con el fascículo gracilis y cuneatus y la formación de la vía lemniscal de segundo orden.

- 5.- El cambio gradual de las fibras de la médula espinal de la zona de Lissauer por las fibras del tracto trigeminal bulbar.
- 6.- El desarrollo de los núcleos de los nervios craneales y su interconexiones a un sistema de fibras aferentes y eferentes.
- 7.- La aparición de los grupos de núcleos que tienen proyecciones con el cerebelo.

G.O ANATOMIA DE LA FORMACION RETICULAR BULBAR

Filogenéticamente la formación reticular es una de las más viejas estructuras del neuroeje, en las formas primitivas se encuentra presente ocupando una gran proporción del sistema nervioso central. En los vertebrados superiores la FRB forma parte del centro del tallo cerebral.

La técnica de Golgi ha dado información de su organización intrínseca, los estudios de Scheibel et al. (1967) indican que, al menos, todos los axones reticulares proyectan en algunos tramos en dirección rostro-caudal. Un gran número de ramas con direcciones colaterales presentan variabilidad en sus terminales. La mayoría de las bifurcaciones primarias están orientadas a lo largo del eje del tallo cerebral pero las proyecciones colaterales se presentan en todas las direcciones. Muchas de estas fibras colaterales se extienden a los núcleos de los nervios craneales y en algunas instancias hacia los núcleos motores y sensoriales. Datos fisiológicos indican que la formación reticular es predominantemente una estructura polisináptica formada por cadenas de neuronas, por las cuales se presentan descargas sucesivas. El impulso conduce rápidamente al centro reticular transmitiéndose a lo largo de las proyecciones de las neuronas reticulares (Adey, 1957).

La mayor parte de la formación reticular la ocupa el núcleo reticularis gigante cellularis. El núcleo reticularis gigante cellularis es relativamente grande y compuesto por células gigantes, medianas y pequeñas. En la línea media a nivel de la oliva bulbar hay un pequeño grupo de células, que se han subdividido en dorsales y ventrales, además del núcleo reticular paramedial. Estudios experimentales (Brodal, 1953) han mostrado que estas neuronas reticulares

proyectan hacia el cerebelo. El núcleo reticular paraventricularis es dorsal y medial al núcleo espino trigeminal y ventral al área vestibular. El área de la formación reticular ha sido referida como "sensorial" por Brodal et al (1957).

En esencia la FRB consiste en tres masas celulares principales: (1) el grupo reticular paramedial (2) el grupo central (ventral reticular y el núcleo gigantocelular) y (3) el grupo nuclear lateral formado por el núcleo reticular lateral y el paraventricular. En la figura 2 se muestran los núcleos más importantes del tallo cerebral que se divide en el mesencéfalo, puente y bulbo.

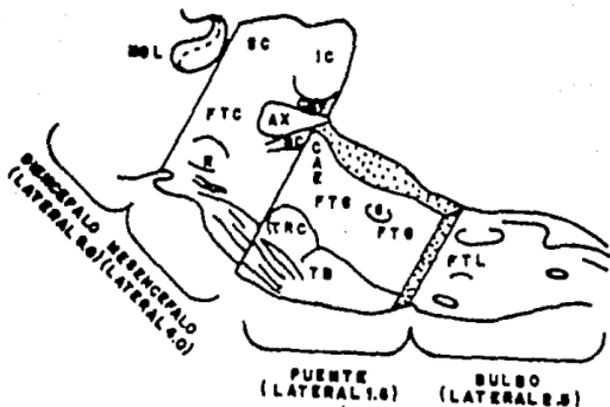


Fig. 2.- Esquema sagital del tallo cerebral del gato. NGL = núcleo geniculado lateral; SC = colículo superior; IC = colículo inferior; CNF = núcleo cuneiforme; AX = área X; CAE = locus caeruleus; BC = branchia conjuntivum; FTG = campo tegmental giganto-celular; 6 = núcleo abducens o VI par; R = núcleo rojo; FTC = campo tegmental central; TRC = división central núcleo reticular tegmental; TB = cuerpo trapezoide; PTL = campo tegmental lateral (Según atlas de Berman, 1968).

7 ASPECTOS TEORICOS DEL ACIDO KAINICO.

El AK es una herramienta muy útil en la investigación neurológica, es un aminoácido que posee propiedades excitatorias y tóxicas en el sistema nervioso central, análogo al glutamato, excitador por excelencia del sistema nervioso.

Su descubridor T. Takemoto en 1953 de la Universidad de Burni Tikushima, en Japón, extrajo el AK del alga marina *Digenea simplex*, esta alga pertenece a la familia rhodomelaceae que se distribuye en el Mar Mediterráneo, Mar Rojo y Océano Indico, ha sido usada por muchas décadas en la farmacopea japonesa como una droga ascaricida.

El nombre de AK se deriva del nombre común que tiene el alga, Makuri o Kaininso que significa fantasma o monstruo del mar. La neurotoxicidad del AK fue reportada por primera vez por Olney et al. (1974). La administración del AK por vía parenteral en ratones inmaduros, causa cambios necróticos en el soma y dendritas, asociado con hiperplasia de elementos gliales seguida por fagocitosis, la cual puede presentarse a las 3 o 4 horas después de la administración. Las fibras aferentes y axones en áreas necróticas parecen normales.

Shinozaki y Konishi (1980) mostraron que la microiontoforesis de AK en las neuronas corticales provoca una acción excitatoria, que consisten en descargas neuronales prolongadas. El AK es el más potente de los análogos del glutamato con una potencia de 300 veces mayor.

El concepto de que el AK actúa a través de los receptores glutamatérgicos fue descartada por Schwarcz (1979) el cual propone un receptor con diferente caracterización farmacológica y distribución regional que el receptor del glutamato. Por otra parte, Mc Geer et al. (1978) en el tejido neocortical encontraron que el AK no actúa directamente sobre los receptores glutamatérgicos.

Hay una gradiente de vulnerabilidad de las neuronas de AK (Schwarcz, 1980), las neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo son las más vulnerables en el cerebro y las neuronas de la banda diagonal de Broca del mesencéfalo son las más resistentes.

Otros análogos excitadores no presentan la misma sensibilidad pero todos destruyen en función del sitio de inyección (Nadler, 1981).

Meldrum (1983) sugiere una disociación en cuanto a las propiedades excitatorias y tóxicas del AK, la lesión de la vía corticoestriatal, confiere una protección a las neuronas estriales de la acción tóxica del AK, sin alterar los efectos excitatorios del AK sobre las neuronas estriales.

Las inyecciones intracerebrales de AK también producen descargas epileptiformes, convulsiones motoras y subsecuentes daños en los sitios de inyección en estructuras distantes (Ben-Ariy et al. 1981, Onley, 1978, Schwob et al 1980, Wuerthele et al 1978).

8 LA FORMACION RETICULAR BULBAR Y EL SUEÑO PARADOJICO.

La presencia de SP después de remover una región del cerebro, es una evidencia definitiva de que esta estructura no participa en la generación de esta fase de sueño. La transección a nivel de los colículos muestra una supresión de los signos del SP, en la parte rostral del cerebro, pero permanece en la parte caudal del corte, incluyendo movimientos oculares rápidos, miosis extrema, atonía muscular del cuello (Jouvet et al., 1962).

En la figura 3 se muestra las principales transecciones que delimitan las regiones involucradas en la generación y mantenimiento del SP.

Por otra parte, trabajos en gatos con transección espinal y en humanos con lesión espinal, han mostrado que la médula espinal no participa en la generación o mantenimiento del SP (Adey et al., 1968).

Magoun y Rhines (1946) proponen al núcleo reticular magnocelular (Mc) como responsable de la atonía muscular que se presenta en el SP.

Kanamori et al. (1980) encuentra una población de neuronas dentro del Mc en registro extracelular que presentaron mayor frecuencia de descarga durante el SP descritas como neuronas "sueño paradójico específicas".

La estimulación del área peri-locus coeruleus provoca la excitación del Mc (Sakai et al, 1981), el cual en cambio ejerce una acción tónica inhibitoria sobre las motoneuronas durante el SP (Morales, 1978).

Las células del Mc participan sinérgicamente con las neuronas de la FR mesencefálicas en la activación del EEG característico del SP (Steriade et al. 1984).

Baghoyan et al. (1984) valoraron la estimulación colinérgica de la formación reticular mesencefálica, pontina y bulbar en sitios anatómicos específicos involucrados en los eventos del SP.

Los resultados conducen a tres observaciones generales:

- A) La estimulación colinérgica en el FTG del puente provoca aumento de SP.
- B) La vigilia fue drásticamente incrementada y el SOL fue disminuido o eliminado en las tres regiones estudiadas.
- C) La parte anteromedial de la formación reticular pontina aparece como un sitio óptimo de respuesta a la estimulación por carbacol.

La inyección de carbacol en la FRB produce un incremento en la vigilia del 146 %, una disminución del 94 % en el SOL y una supresión total del SP.

En un estudio relacionado Hobson et al. (1983) inyectaron un agonista muscarínico (betanecol) dentro de la FRB observaron una supresión de SP sin decremento de SOL. Con esto propusieron dos posibles explicaciones por el cual el carbacol, pero no el betanecol, suprime el SOL en la FRB; el sitio de inyección de betanecol fue 2 mm más rostral que los sitios con carbacol (Baghdoyan et al. 1984) y la posibilidad que el componente nicotínico del carbacol tenga efecto en la disminución del SOL.

Webster, (1986) realizando una serie de transecciones en la formación reticular ponto-bulbar (completa, dorsal y ventral) valora los cambios poligráficos del SP (desincronización del EEG, atonía muscular y actividad PGO).

Estos resultados sugieren que el sistema reticular entre el tegmento pontino y el bulbar son necesarios para la ocurrencia normal del SP, esto es que la formación reticular pontina aislada de la bulbar no es suficiente para la generación del SP.

El efecto de la transección ponto-bulbar sobre las espigas PGO indica que dependen del reclutamiento masivo de neuronas de la formación reticular que incluye no sólo las neuronas pontinas sino también las bulbares. La pérdida total de SP posiblemente es debida a la interrupción de sistemas ascendentes involucrados con su generación.

La transección dorsal de la formación reticular en la unión ponto bulbar provoca un decremento en la frecuencia de espigas PGO y en la duración de los periodos de SP y se presenta atonía muscular. El corte pasa a través del haz longitudinal catecolaminérgico del tegmento dorso lateral y las fibras descendentes adrenérgicas de las neuronas del locus coeruleus y de las fibras ascendentes catecolaminérgicas de las neuronas bulbares.

En la transección ventral, el SP todavía se presenta, sin embargo está grandemente alterado. La actividad PGO y la atonía muscular es casi nula y la duración de los episodios de SP fueron reducidos. Este corte atraviesa la mitad ventral tanto del FTL como del FTG. El corte incluye fibras descendentes del mesencéfalo y la formación reticular pontina (FRP) "vía tegmento reticular", también com-

prende las fibras tegmentales reticulares de la FRB ventromedial ascendentes, lo que nos indicaría que son éstas las regiones más importantes para los eventos que caracterizan al SP.

Estos resultados mostraron que la transección dorsal del haz longitudinal catecolaminérgico no es esencial para la ocurrencia del SP. En la transección ventral, el SP todavía se presenta, sin embargo está grandemente alterado.

La actividad PGO y la atonía muscular es casi nula y la duración de los episodios de SP fueron reducidos.

La atonía muscular esta ausente después de la transección ventral de la formación reticular ponto-bulbar, el sueño fue continuamente interrumpido por movimientos de cabeza, cuerpo y miembros. Estos resultados sustentan la tesis propuesta por Sakai y Jouvét (1980) en la cual las neuronas del perilocus coeruleus alfa proyectan a lo largo de la "vía tegmento reticular" hacia el MC que juega un papel crítico en la atonía muscular. El trayecto de la vía "tegmento reticular" es también vía pontis oralis y caudalis hacia el tegmento mesencefálico (Martín GF et al. 1979) y posiblemente colinérgica (Armstrong et al. 1983; Kimura et al. 1982). Al igual que la transección dorsal y ventral se presentó una disminución de la frecuencia de PGO. Así la actividad PGO depende de una población grande de neuronas ponto-bulbares.

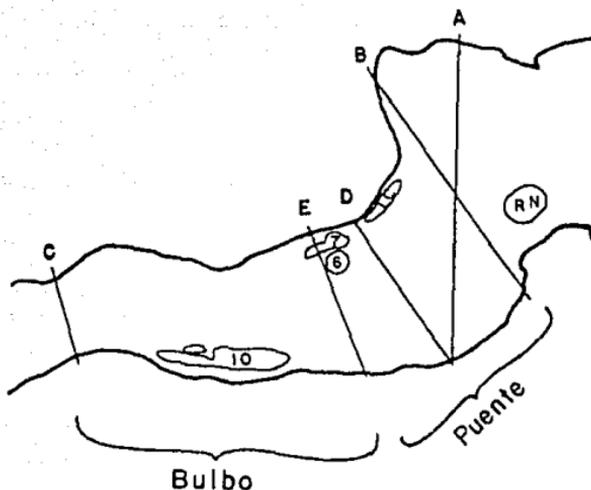


Fig 3.- Principales transecciones que delimitan las regiones involucradas en la generación del SP. Las secciones A, B, C, no provocan cambios en los patrones del EEG, EMG, y actividad PGO que caracteriza el SP y las secciones E y D sí provocan trastornos en los patrones que caracterizan al SP. Por lo anterior, la región pontina se considera importante en la generación de SP. Lc, locus coeruleus; 10, oliva inferior; 6, núcleo abducens; 7, nervio facial; 3, nervio ocular, A y B son transecciones que delimitan la región pontina y mesencefálica, C delimita la médula espinal y el bulbo, D transección medio pontina y E sección en la unión ponto-bulbar.

9 PROBLEMA

En trabajos previos se reportó que la estimulación producida por la microinyección de AK en la FRB disminuye la frecuencia de espigas PGO (Mora, 1987). Por otra parte, deaferentando la FRB por sección coronal, aumenta la frecuencia de éstas espigas (Bello, 1989).

Con estos resultados se propuso que la FRB participa como inhibidor de la actividad PGO.

En este trabajo se realiza una valoración del efecto de la excitación neuronal de la FRB por medio de microinyecciones de AK sobre la actividad PGO, realizándose una comparación antes y después de la microinyección en la FRB unilateral y bilateral sobre la frecuencia de espigas PGO.

En la segunda parte del trabajo se realiza una comparación entre la estimulación neuronal de la FRB y los NRB por medio de la microinyección de AK con el fin de valorar sus efectos en la frecuencia de espigas PGO.

10 OBJETIVOS

- 1) Observar los efectos de la microinyección de AK en la FRB sobre la frecuencia de espigas PGO provocados por el corte parasagital del tallo cerebral.
- 2) Comparar el efecto de la microinyección de AK en la frecuencia de espigas PGO tanto en la FRB como en los NRB.

El experimento agudo es una preparación experimental en la cual el animal se encuentra anestesiado, curarizado y montado en un marco estereotáxico como se ve en la figura 5 y 6.

Los pasos experimentales que se siguieron fueron los siguientes:

a.- Peso del animal

Se determinó el peso del animal para calcular la dosis correspondiente al anestésico (Uretano, 1.5 gr/Kg).

b.- Venoclisis.

Se disecó la vena femoral y se introdujo un cateter por el que se administran líquidos durante el experimento (mezcla de dextrosa-harman 2:1), se procedió a cerrar la herida suturando la piel. Se reguló el goteo a 100 ml/Kg/día, para mantener una buena hidratación del animal.

c.-Cistostomía.

Después de cortar el pelo de 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 impedir la salida normal de la orina; se suturó por capas. Se recolectó y cuantificó la orina durante el experimento con el fin de regular la reposición de líquidos.

d.- Traqueostomía.

Se diseccionó la tráquea y haciendo una incisión entre dos anillos cartilagosos se colocó una cánula endotraqueal de dos vías para respiración artificial. Después de esto se inyectó curarizante (Pancuronio; Pavulon) para inmovilizar al animal y se conectó a una bomba de presión positiva intermitente para administrar aire húmedo, regulando la cantidad de aire según la expansión torácica.

e.- Montaje.

Para colocar al animal en el marco estereotáxico, se introdujo 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 se colocan soportes en la parte inferior de las orbitas y en el paladar.

EL montaje estereotáxico nos permite la localización de cualquier estructura del encéfalo, por medio de coordenadas en tres dimensiones establecidas según el atlas de Berman (1968).

Una vez eliminado el pelo de la parte superior de la cabeza se cortó la piel del cráneo, separando los músculos. Se realizaron trépanos a nivel del NGL y de la corteza occipital por medio de un taladro dental, además una cerebrectomía por succión, con el fin de dejar descubierto el cuarto ventrículo. Se implantaron electrodos bipolares de acero inoxidable, colocados estereotáxicamente en el NGL derecho, para el registro de la actividad PGD (figura 6). Se colocó una cánula guía en la FRB y en los núcleos del rafe bulbar (NRB) según el grupo experimental.

PREPARACION EXPERIMENTAL

CIRUGIAS

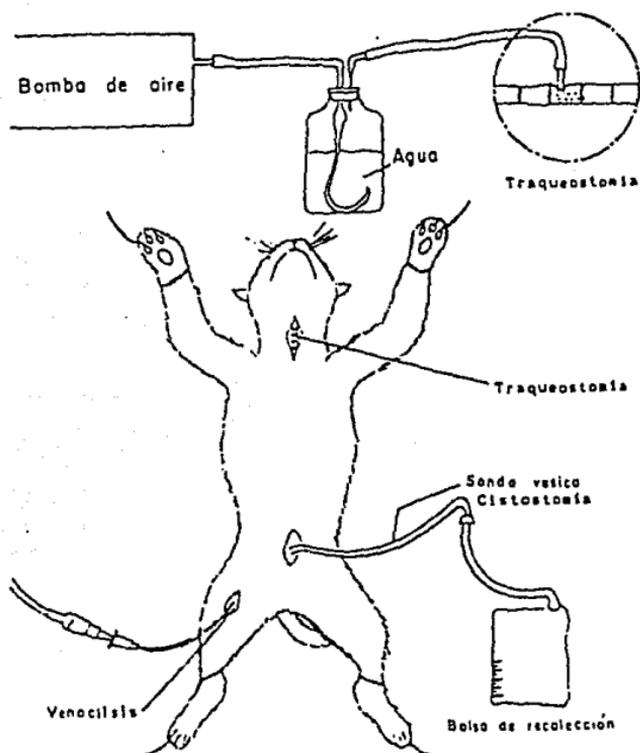


Fig 5.- Se muestran las principales cirugías que se realizan en el gato para la preparación del experimento agudo.

PREPARACION EXPERIMENTAL
MONTAJE EN EL ESTEREOTAXICO

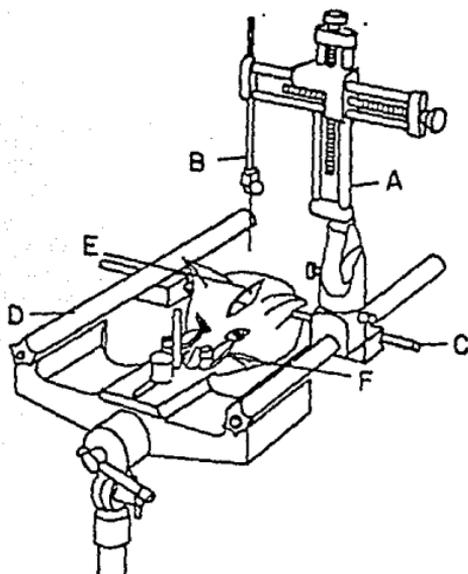


Fig 6.- Colocación del animal en el marco estereotáxico. A) torre estereotáxica; B) electrodo; C) barra estereotáxica (conducto auditivo); D) barra paralela; E) Trépano; F) barra estereotáxica (órbita ocular).

Inducción continua de la actividad PGO.

A partir de experimentos neurofarmacológicos, se ha establecido una estrecha relación entre las monoaminas cerebrales y la actividad PGO, la administración de reserpina provoca depleción de los niveles de serotonina en las terminales nerviosas, dejándolas sin reserva durante algún tiempo. Esta depleción de los niveles de serotonina provoca la aparición de la actividad PGO. Este fenómeno es aprovechado como un método farmacológico de inducción de actividad PGO.

El presente trabajo se induce actividad PGO por un método no farmacológico consistente en la deaferentación de las proyecciones del rafe a la formación reticular basado en la hipótesis en la cual el núcleo del rafe dorsal está involucrado en la regulación de la actividad PGO. Simon et al. (1973) induce actividad PGO, por medio de un corte parasagital en el tegmento pontino deaferentado las proyecciones del núcleo del rafe dorsal (fig. 7). La producción espontánea de actividad PGO se debe a la destrucción de las conexiones entre el núcleo de rafe y el tegmento pontino, produciendo un estado independiente de descarga de espigas PGO. De acuerdo con el modelo de interacción recíproca las neuronas serotoninérgicas (N. rafe) inhiben el SP.

El método empleado consiste en una sección parasagital, 1 mm de la línea media del tallo cerebral por medio de bisturí del No 3.

La frecuencia y curso temporal de la actividad PGO producida por este método ha sido caracterizada previamente (Alvarado, 1988).

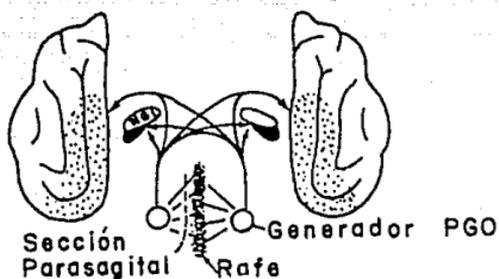


Fig. 7.- El esquema muestra la deafferentación de las proyecciones serotoninérgicas a la formación reticular y de ésta forma se evita la inhibición serotoninérgica sobre el generador de la actividad PGO (la formación reticular pontina).

Registro de la actividad PGO.

Se registraron los potenciales PGO en el NGL derecho, utilizando electrodos bipolares de acero inoxidable de 200 μm de diámetro, con separación de 1 mm entre los polos y con un aislamiento de barniz, excepto a 0.5 mm de la punta. Se usó un polígrafo Grass modelo 78-D, con papel a una velocidad de 5 mm/seg ; acoplado a un contador analógico/digital, que transforma cada espiga PGO en un pulso. Se tomó un registro continuo, promediando la frecuencia de potenciales PGO cada 10 min , se tomó una hora como registro control antes de la inyección con el fin de comparar la frecuencia resultante de la microinyección de AK. La duración del registro fue de 3 a 4 horas.

Sistema de microinyección.

La aplicación del AK se realizó utilizando un sistema microinyector constituido por un tornillo micrométrico y un sujetador de microjeringa, el cual se adaptó a una torre estereotáxica (figura 8). Se usó una microjeringa Hamilton de 10 μl unida por una aguja a un tubo de polietileno. Se usó una cánula de inyección (número 27) de acero inoxidable. Esta cánula se montó sobre una cánula guía del número 21 y una longitud de 7 cm . La inyección se realizó en un período de 5 minutos (0.2 $\mu\text{l}/\text{min}$).

Con la finalidad de verificar los sitios de inyección, al final de cada experimento, el animal se perfundió por vía intracardiaca con solución salina para lavar y con una solución de formol al 10% para la fijación para posteriormente realizar cortes histológicos de 60 a 80 μm en un microtomo de congelación.

Dosis y volumen de microinyección.

La dosis de AK utilizado fue de 0.5 ug/ul, un volumen de inyección de 1ul y con una velocidad de inyección de 5 minutos en la FRB derecha con el grupo unilateral, con el grupo bilateral se utilizó la misma concentración con un volumen de microinyección de 1ul (0.2 ul/min.) en la FRB tanto derecha como izquierda, después de realizarse la microinyección derecha inmediatamente se procedió con la izquierda.

Estos factores son determinados en base a los recomendados para obtener efecto excitatorio con menor efecto tóxico en la fase aguda (Nadler et al. 1978 y McGeer et al. 1978).

Para comparar los efectos del AK sobre los NRB y la FRB se utilizó la misma dosis pero se disminuyó el volumen de microinyección de 1ul a 0.5 ul con la finalidad de evitar la difusión a ambos núcleos.

Control por efecto de la inyección.

El efecto de la inyección en la formación reticular pontina fue valorada por el trabajo de Mora (1987), sin que hubiera cambio significativo entre el vehículo (agua desionizada) y la microinyección de AK.

Grupos experimentales.

Se utilizaron un total de 22 gatos que se dividieron en los siguientes grupos experimentales:

- 1) 6 gatos con microinyección bilateral de AK en concentración de 0.5 ug/ul y un volumen de 1 ul en la FRB.
- 2) 7 gatos con microinyección unilateral de AK en concentración de 0.5 ug/ul y un volumen de 1ul en la FRB.
- 3) 4 gatos con microinyección unilateral de AK en concentración de 0.5 ug/ul y un volumen 0.5 ul en la FRB.
- 4) 5 gatos con microinyección unilateral de AK en concentración de 0.5 ug/ul y un volumen de 0.5ul en los núcleos del rafe bulbar.

La prueba estadística utilizada fue la t student para las medias de muestras correlacionadas (Wayne W. 1987).

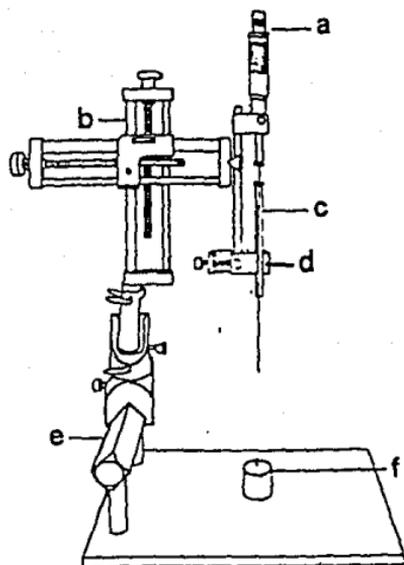


Fig 8.- Sistema de microinyección: a) Micrómetro; b) Torre estereotáxica; c) Microjeringa de 10 ul; d) Sujetador de microjeringa; e) Barra estereotáxica; f) Punta de referencia "cero" estereotáxico.

12 RESULTADOS.

a) En todas las microinyecciones con AK realizadas en la FRB se presentó una disminución de la frecuencia de espigas PGO.

b) Sin embargo, en algunos experimentos la disminución de la frecuencia de espigas no permaneció constante durante todo el tiempo de registro. En estos casos para el análisis, sólo se tomaron los datos hasta que su valor de frecuencia no fuera de un valor mayor que el promedio basal, analizándose estos datos conjuntamente con los obtenidos en experimentos en que sí se mantiene la disminución de la frecuencia de espigas PGO durante todo el tiempo de registro.

c) Para los experimentos en que no se mantiene el efecto de disminución de la frecuencia de espigas PGO, se realizó un análisis separado que comprende todo el curso temporal.

EFFECTO DE LA MICROINYECCION BILATERAL DE AK EN LA FRB SOBRE LA ACTIVIDAD PGD.

Frecuencia de espigas PGD. En la tabla 1 se presenta el promedio de la frecuencia por minuto de espigas PGD que fue de 22.3 +/- 1.88 de EE en su basal y después de la microinyección bilateral de AK en la FRB fue de 10.21 +/- 3.88 espigas PGD, correspondiente a una disminución del 54.21 % con respecto al control.

TABLA 1. FRECUENCIA POR MINUTO PROMEDIO DE LAS ESPIGAS PGD CON MICROINYECCION AK EN LA FRB BILATERAL

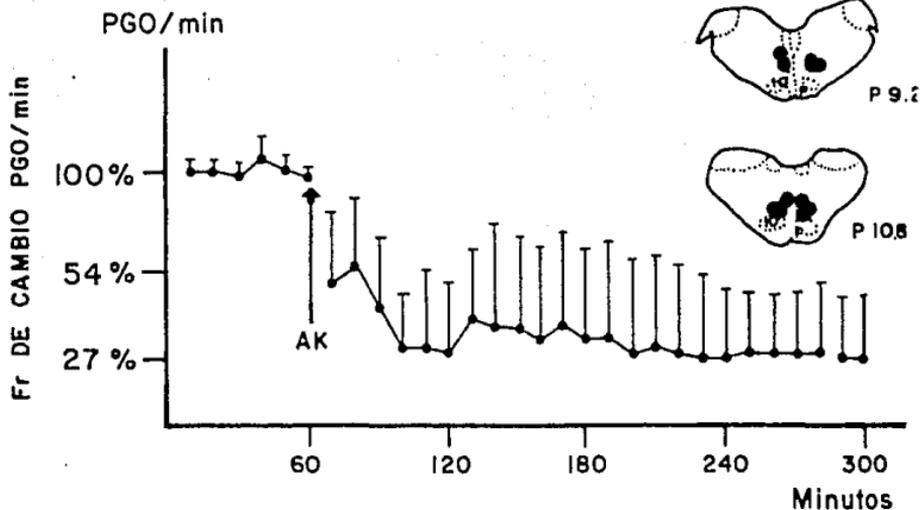
	n	X	EE	% CAMBIO
CONTROL	6	22.3	1.88	
AK	6	10.21	3.88	-54.21 **

n= número de gatos, X= frecuencia promedio de PGD; EE= error estándar; % CAMBIO = porcentaje de cambio con relación al control; (**) p<0.005.

Curso temporal. Se muestra en la gráfica 1 el curso temporal del porcentaje de cambio de la actividad PGD, después de la aplicación de AK en la FRB bilateralmente. Se observó una disminución que oscila entre 46 y 73 % de frecuencia con relación a la basal, la disminución más drástica se observa durante la primera hora después de la inyección y el cambio se mantiene durante todo el periodo de registro (5 horas).

Sitios de inyección: Los sitios de inyección se encuentran dentro de los planos 9.2 y 10.8 posterior del atlas de Berman (1968) que corresponden a la FRB.

GRAFICA 1. CURSO TEMPORAL PROMEDIO DE LA FRECUENCIA DE
 ESPIGAS PGO CON MICROINYECCION DE AK EN LA FRB BILATERAL



Curso temporal promedio de la frecuencia de espigas PGO/min con microinyección bilateral de AK (.5ug/ul) en un volumen de 1ul.

EFFECTOS DE LA MICROINYECCION UNILATERAL DE AK EN LA FRB SOBRE LA ACTIVIDAD PGO.

Frecuencia de actividad PGO. La frecuencia promedio de espigas PGO con microinyección de AK en la FRB unilateral fue de 10.39 +/- 2.35 espigas/minuto, su frecuencia basal fue de 24.10 +/- 3.53 espigas. El cambio provocado por el AK corresponde a una disminución del 57 % con respecto al valor basal.

TABLA 2. FRECUENCIA POR MINUTO PROMEDIO DE LAS ESPIGAS PGO CON MICROINYECCION UNILATERAL DE AK EN LA FRB.

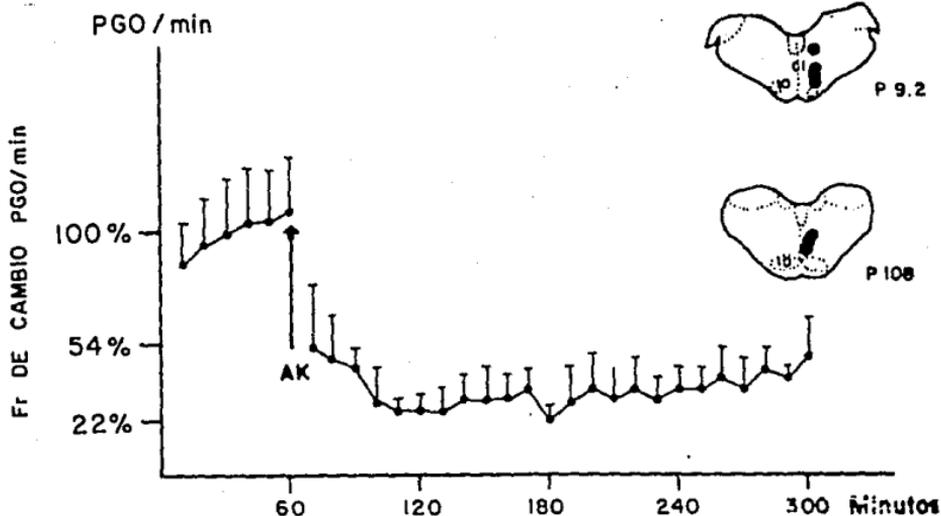
n	X	EE	% CAMBIO
CONTROL	7	24.10	3.53
AK	7	10.39	2.35 -57.0 **

n= número de gatos, X= frecuencia promedio de PGO; EE= error estándar; % CAMBIO= porcentaje de cambio con relación al control; (**) p<0.005.

Curso temporal. El curso temporal del porcentaje de cambio de la frecuencia de espigas PGO provocado por el AK se muestra en la gráfica 2. La disminución más drástica se presenta en la primera hora después de la inyección, posteriormente la disminución se mantiene más o menos constante. La disminución oscila entre 46 y 78% .

Sitios de microinyección. Todos los sitios de inyección se encuentran dentro de la FRB entre los planos 9.2 y 10.8 del atlas de Berman (1968), como se muestra en la gráfica 2.

**GRAFICA 2. CURSO TEMPORAL DE LA FRECUENCIA PROMEDIO DE LAS
ESPIGAS PGO CON MICROINYECCION DE AK EN LA FRB UNILATERAL.**



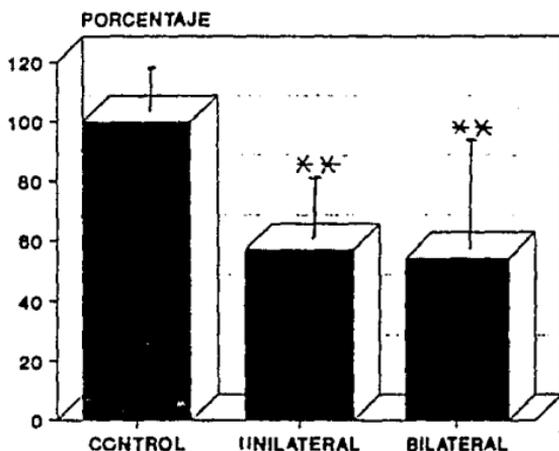
Curso temporal promedio de la frecuencia de espigas PGO/min con microinyección unilateral de AK (.5ugr/ul) en un volumen de 1ul.

COMPARACION ENTRE LOS EFECTOS DE LA INYECCION UNI Y BILATERAL DE AK EN LA FRB SOBRE LA ACTIVIDAD PGO.

El porcentaje de cambio de espigas PGO con microinyección de AK en la FRB bilateral mostró una disminución del 54.21 % con respecto a su basal y el porcentaje de cambio de espigas PGO con microinyección de AK en la FRB unilateral mostró una disminución del 57 % de su basal.

Se observó que la microinyección de AK en la FRB unilateral produce una disminución de 2.79 % de espigas PGO mayor que la estimulación bilateral, diferencia no significativa, (gráfica 3).

**% DE CAMBIO DE LA FRECUENCIA DE PGO/MIN
AC. KAINICO EN FRB UNI Y BILATERAL**



Gráfica 3. Histograma comparativo de la frecuencia de espigas PGO/min. entre la microinyección de AK en la FRB bilateral y unilateral (***) $p > 0.005$

EFFECTO SECUNDARIO POSTERIOR AL EFFECTO INHIBIDOR (DE ESPIGAS PGO).

En 5 de los 13 gatos, 2 con microinyección en la FRB unilateral y 3 con bilateral, la estimulación por AK además de producir una disminución de la frecuencia de espigas PGO también provocó posteriormente un aumento de la frecuencia de espigas con respecto a su basal.

En estos 5 gatos se dividió el análisis, considerando primeramente el efecto del AK en la FRB que es una disminución de la frecuencia de las espigas PGO, tomándose todos los registros cuyo valor es menor al promedio basal.

Posteriormente se hace el análisis del efecto secundario del AK sobre la FRB que es un aumento de la frecuencia de las espigas PGO, tomando los registros cuyo valor es mayor al promedio basal.

La latencia entre la disminución por efecto de la inyección de AK en la frecuencia de espigas y el aumento va de 30 minutos a 3.40 horas.

En 3 de ellos el aumento fue drástico alcanzando más del doble de la frecuencia de espigas PGO control y en uno de ellos (microinyección bilateral) alcanzó más del cuádruple de la frecuencia del valor basal, con un máximo de 123 espigas/minuto (ver gráfica 4).

Frecuencia de actividad PGO. La frecuencia promedio de espigas PGO en su basal fue de 24.33 \pm 3.72 y con microinyección de AK se observó un efecto inicial de disminución de la frecuencia de espigas PGO con un promedio de 13.15 \pm 4.42 que corresponde a una disminución de 49 % con respecto al valor control, el efecto secundario del AK fue un aumento de la frecuencia promedio de espigas PGO con un valor promedio de 34.67 \pm 5.72 que corresponde a un aumento del 42.4 % con respecto a su basal (ver tabla 3).

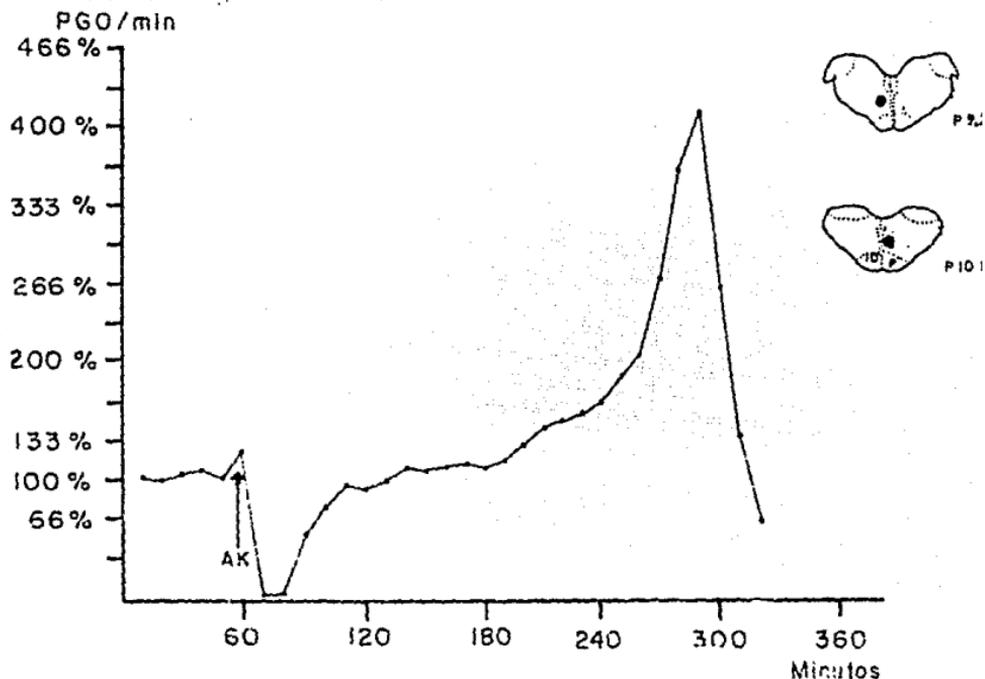
Sitios de inyección. Los sitios de inyección se encuentran en los niveles 9.2 y 10.8 posterior (atlas de Berman, 1968) correspondiente a la FRB.

TABLA 3. PROMEDIO DE LA FRECUENCIA POR MINUTO DE ESPIGAS PGO CON MICROINYECCION DE AK EN LA FRB UNI Y BILATERAL. EFECTO DE INCREMENTO SECUNDARIO EN LA FRECUENCIA DE ESPIGAS PGO.

	n	X	EE	% CAMBIO
CONTROL	5	24.33	3.72	
AK				
1er EFECTO	5	13.15	4.42	-49.0 **
2o EFECTO	5	34.67	5.72	42.4 *

n= número de gatos, X= frecuencia promedio de PGO/minuto; EE= error estándar; % CAMBIO= porcentaje de cambio con relación al control; (**) P<0.005; (*) p<0.05

GRAFICA A. CURSO TEMPORAL DE LA FRECUENCIA DE ESPIGAS PGO/min CON MICROINYECCION DE AK. EJEMPLO EN EL CUAL SE PRESENTO UN EFECTO DUAL.



Curso temporal de la frecuencia de espigas PGO/min con microinyección bilateral de AK (.5ug/ul), se observa inicialmente una disminución drástica de la frecuencia de espigas PGO y posteriormente una recuperación a los 140 minutos. A los 240 minutos se inicia la segunda fase caracterizada por un incremento en la frecuencia, alcanzando el pico máximo a los 300 minutos después de aplicado el AK. En el recuadro de la esquina superior derecha se muestran los sitios de inyección que se encuentran dentro de la FRB en los planos P 9.2 y P 10.8.

COMPARACION DE LOS EFECTOS SOBRE LA ACTIVIDAD PGO PROVOCADOS POR LA MICROINYECCION DE AK EN LA FRB Y LOS NRB.

MICROINYECCION EN LA FRB.

En esta parte del trabajo fue necesario disminuir el volumen de microinyección debido a que con el volumen de 1ul la difusión afecta a la FRB y a los NRB. El volumen que se utilizó para comparar entre ambos núcleos fue de 0.5 ul.

Frecuencia de actividad PGO. La frecuencia promedio de espigas PGO en su basal fue de 33.53 +/- 6.77 con la microinyección de AK en la FRB fue de 13.41 +/- 3.15 porcentaje de cambio provocado por el AK en esta región fue de 59.62 %, como se muestra en la tabla 4.

TABLA 4. FRECUENCIA PROMEDIO DE LAS ESPIGAS PGO POR MINUTO CON MICROINYECCION DE AK EN LA FRB UNILATERAL.

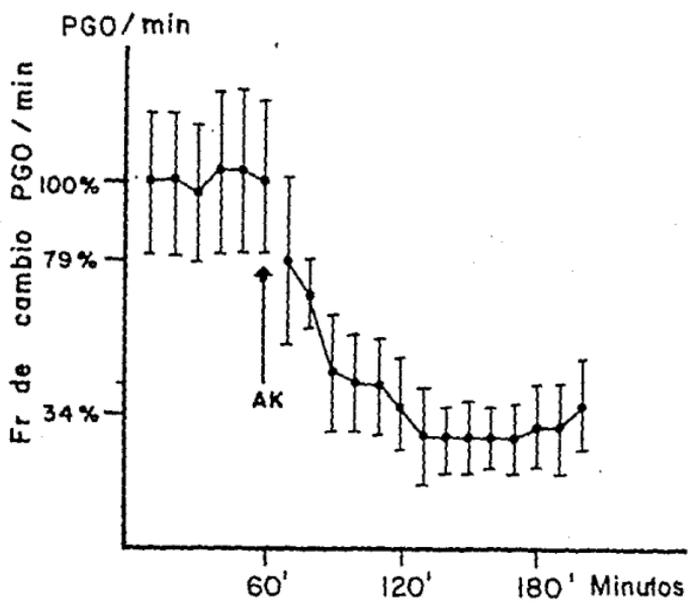
	n	X	EE	% CAMBIO
CONTROL	4	33.53	6.77	
AK	4	13.41	3.15	-59.62 *

n= número de gatos, X= frecuencia por minuto promedio de espigas PGO; EE= error estándar; % CAMBIO = porcentaje de cambio con relación al control; p<.025.

Curso temporal. En el curso temporal del porcentaje de cambio de la actividad PGO después de la aplicación de AK en la FRB (Gráfica 4), se observa una disminución que oscila entre el 21 al 70 % con relación al control.

Sitios de inyección. Los sitios de inyección se encuentran en la FRB entre los planos 9.2 y 10.8 posterior según el Atlas de Berman 1968.

GRAFICA 5. CURSO TEMPORAL PROMEDIADO DE LA FRECUENCIA DE
 ESPIGAS PGO/MIN. CON MICROINYECCION DE AK EN LA FRB
 UNILATERAL.



En el curso temporal promedio se observa una disminución de la frecuencia de las espigas PGO con respecto a su control, provocada por la microinyección de AK (5ug/ul) con un volumen de 0.5ul en la FRB.

MICROINYECCION EN LOS NUCLEOS DEL RAPE BULBAR (NRB).

La frecuencia promedio de espigas PGO con microinyección de AK en los NRB fue de 20.72 +/- 3.51 espigas/min. PGO. En su línea basal fue de 22.54 +/- 2.42 espigas/min. El porcentaje de cambio fue una disminución del 8.07 % con respecto a la línea basal que no fue estadísticamente significativo (tabla 6).

TABLA 6. FRECUENCIA POR MINUTO PROMEDIO DE LAS ESPIGAS PGO CON MICROINYECCION DE AK EN LOS NRB.

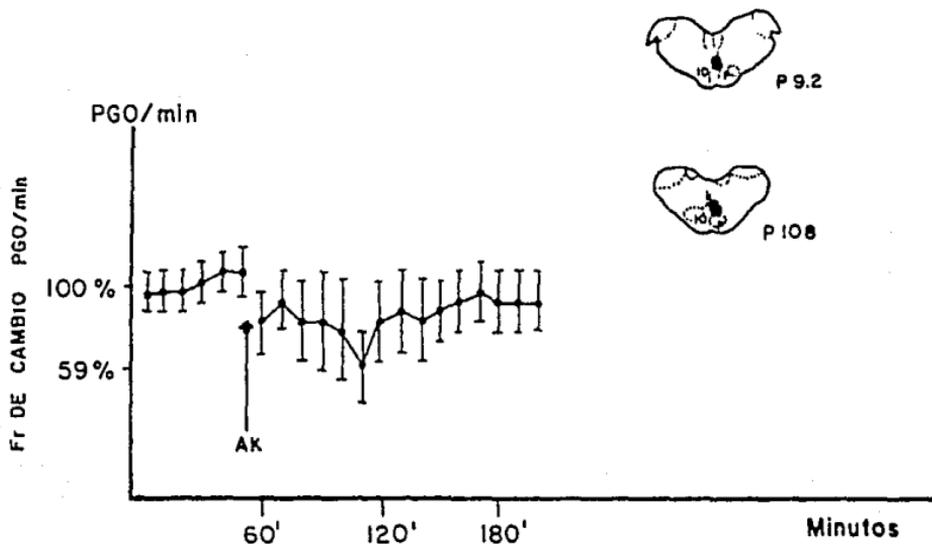
	n	X	EE	% CAMBIO	p
CONTROL	5	22.54	2.42		
AK	5	20.72	3.51	-8.07	NS

n= número de gatos, X= frecuencia promedio de PGO; EE= error estandar; % CAMBIO = porcentaje de cambio con relación al control, NS= no significativa.

Curso temporal. El curso temporal del porcentaje de cambio de la actividad PGO después de la aplicación del AK en los NRB se muestra en la gráfica 5. Este cambio se mantiene todo el período de registro (3 horas) sin retornar a la línea basal.

Sitios de microinyección. Los sitios de inyección se encuentran dentro de los niveles 9.2 y 10.8 posterior del atlas de Berman (1968) y sobre la línea media que corresponde a los NRB, (gráfica 5).

GRAFICA 8. CURSO TEMPORAL PROMEDIADO DE LA FRECUENCIA DE ESPIGAS PGO CON MICROINYECCION DE AK EN LOS NRB (A NIVEL DE LA LINEA MEDIA BULBAR).



En la gráfica se muestra el curso temporal promedio de la frecuencia de espigas PGO control y con microinyección de AK (Sugr/ul) en un volumen de 0.5 ul en los NRB, como se observa hay una pequeña disminución con respecto al control, equivalente al 8 % que no es significativo. Se muestran los sitios de inyección del AK que se encuentran a nivel de 9.2 a 10.8 posterior, al mismo nivel antero-posterior en la parte media que corresponde a los NRB.

13 DISCUSION Y CONCLUSIONES

-Nuestros resultados muestran que la estimulación producida por el AK en los somas neuronales de la FRB disminuye la frecuencia de espigas PGO, lo cual sugiere que la FRB participa en la regulación de la actividad PGO. Se propone que la FRB participa como inhibidor de esta actividad sobre los generadores rostrales, estos resultados apoyan el trabajo de Mora (1987), que a igual que el presente trabajo encuentra disminución de la frecuencia de espigas PGO al inyectar AK en la FRB, en las mismas condiciones experimentales agudas. Por otra parte, Bello (1987) encuentra que las secciones coronales entre los niveles 6.5 (VI par) a II posterior del Atlas de Berman (1968) provoca un aumento de la frecuencia de espigas PGO en preparación aguda, que apoya la hipótesis de que la FRB sea inhibidora de los generadores que controlan la frecuencia de espigas PGO.

Por lo tanto los argumentos en que se basa la hipótesis son:

- 1) La estimulación de la FRB con AK provoca una disminución de la frecuencia de espigas PGO.
- 2) La deaferentación de la FRB por medio de sección, provoca un aumento de la frecuencia de espigas PGO.

La mayoría de estudios de sueño están enfocados en la valoración del ciclo sueño-vigilia por lo tanto el modelo experimental utilizado es la preparación crónica. En el presente trabajo el modelo experimental utilizado fue la preparación aguda ya que permite estudiar específicamente la actividad PGO y no el sueño en forma global y este modelo experimental nos dá la ventaja de estudiar esta actividad en forma continua y tener control sobre las manipulaciones.

Es importante mencionar que la manipulación de la FRB en experimentos crónicos presenta una mayor dificultad ya que esta región es responsable de funciones respiratorias y cardiovasculares.

Los estudios del ciclo sueño-vigilia apoyan la participación de la FRB en la regulación de la actividad PGO como parte del SP:

La estimulación colinérgica tanto en el receptor nicotínico con carbacol (Baghdoyan et, al. 1984) como en el receptor muscarínico con batanecol (Hobson, et al. 1983) producen supresión de la actividad PGO y del SP.

Por medio de secciones sagitales totales, dorsales y parciales en la unión ponto bulbar se valoró la participación de la FRB en el SP (Webster, 1986), encontrando lo siguiente:

Con sección total se presentan cambios importantes en el SP que son, ausencia de la desincronización en el EEG y de atonía muscular y actividad PGO casi nula. Con sección parcial dorsal no hay cambio significativo en el patrón de desincronización del EEG con presencia de atonía muscular y sólo se observó una disminución en la frecuencia de las espigas PGO. En la sección parcial ventral se observó igualmente que con sección total un cambio drástico en los patrones que caracterizan el SP, específicamente una ausencia de desincronización del patrón del EEG y de la atonía y casi sin actividad PGO. Los resultados descartan la participación de la vía noradrenérgica dorsal y apoyan al tracto tegmental pontino como papel fundamental en el SP haciendo incapie en la atonía que se presenta con la sección dorsal, en cuanto a la actividad PGO se propone que requiere de un número mayor de neuronas tanto ventrales como dorsales para su generación.

Es importante mencionar la diferencia de resultados obtenidos por Bello (1987) y Webster et al. (1986) en los cuales se utiliza la misma herramienta (sección) para estudiar el efecto de la deaferentación de la FRB sobre la actividad PGO con resultados contrarios en la frecuencia de espigas, Webster et al. (1986) encuentran una supresión casi completa de la frecuencia de espigas PGO mientras que Bello (1987) encuentra un aumento mayor al 100% de espigas PGO al deaferentar el puente por sección a nivel de la FRB. La diferencia básica entre estos dos experimentos es precisamente la preparación experimental, los estudios de Webster et al. (1986) son en preparación crónica y a nivel del IV par mientras que Bello (1987) son en preparación aguda y secciones 4 mm posteriores al IV par.

El interés de usar el AK es debido que el AK es el más potente excitador de los aminoácidos análogos al glutamato, el excitador por excelencia del sistema nervioso y de ésta manera tener efectos mayores que los del glutamato. El AK fue utilizado siguiendo las recomendaciones de McGeer y col., (1978) para conseguir la eficiencia máxima de los efectos excitadores del AK y un menor efecto tóxico.

El efecto secundario que consiste en un aumento de la frecuencia de espigas PGO con respecto a su control, que se presentó en 5 experimentos (2 unilaterales y 3 bilaterales), posiblemente se debe a un efecto posterior de lesión provocado por el AK produciendo muerte neuronal de la región inhibidora (FRB) y entonces se presenta el aumento de la frecuencia de espigas PGO sin embargo, esta sugerencia debe ser confirmada por estudios histológicos de los sitios de inyección entre los que se presenta el efecto y los que no.

En la segunda parte del trabajo se valoró el papel de los NRB sobre la frecuencia de espigas PGO, para descartar la posibilidad de difusión del AK a estos núcleos, ya que se encuentran contiguos a la FRB, por lo cual se hizo necesario diferenciar sus efectos. Para evitar la mayor difusión se disminuyó el volumen de inyección de 1 a 0.5 ul de AK y se aplicó en la FRB y en los NRB. En las microinyecciones en la FRB se presentó una disminución significativa de la frecuencia de espigas PGO, mientras que en los NRB no se presentaron cambios significativos. Con esto, se descarta la participación de los NRB en la regulación de la actividad PGO provocada por la estimulación.

-Por todo lo antes mencionado podemos decir que la FRB participa en la regulación de la actividad PGO.

-Que la estimulación provocada por el AK en la FRB produce una disminución de esta actividad, sobre los generadores rostrales en condiciones experimentales agudas.

-Los NRB no participan en la regulación de la actividad PGO.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

14 BIBLIOGRAFIA

Adey, W. R., Bors E. y Porter R. W., EEG sleep patterns after high cervical lesion in man, Arch. Neurol. 19:377-383, 1968.

Adey, W. R., Segundo J. P. y Livingston R. B. Cortifugal influence on intrinsic brain stem conduction in cat and monkey. J. Neurophysiol. 20:1-46, 1957.

Alvarado R. y Manjarrez J. Modelo no farmacológico para la inducción continua de la actividad ponto-genículo-occipital (PGO). XXXI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Querétaro, México, M47, 1988.

Armstrong DM., Saper CB., Levey Al., Wainer BH. y Terry RD. Distribution of cholinergic neurons in rat brain: demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. J. Comp. Neurol., 216:53-68, 1983.

Aserinsky E. y Kleitman N. Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. Science 118:273, 1953.

Baghdoyan H. A., Rodrigo-Angulo M. L., McCarley RW. y Hobson J. Site-specific enhancement and suppresion of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brain stem regions. Brain Res. 306:39-52, 1984.

Bello, B. L. Wences, H., Manjarrez, J. y Alvarado, R. Efectos sobre la actividad ponto-geniculo-occipital del gato inducidos por transecciones del tallo cerebral. II Reunión Anual I.N.N.N. México 1, 1987.

Ben-Ari Y., Trembley E., Riche D., Ghilini G. y Naquet R. Electrographic, clinic and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculline and pentetrazole: metabolic mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathological of epilepsy Neuroscience 6:1361-1391, 1981.

Berman, A. L., The brain stem of cat. University of Wisconsin Press, Madison, 175 pp, 1966.

Bizzi y Brooks, D.C. Functional connections between pontine reticular formation and lateral geniculate nucleus during deep sleep. Arch. Ital. Biol. 101:666-680, 1963.

Brodal, A. Reticulo-Cerebellar connections in the cat. An experimental study. J. Comp. Neurol. 98:113-153, 1953.

Brodal, A y Pompeiano, O. The vestibular nuclei in the cat. J. Anat. 91: 438-454, 1957.

Cespulgio, R., Laurent, J. P. y Jouvet, M. Etude des relations entre l'activités phasiques provoquées par la respine au niveau du système oculo-moteur. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 40:12-24, 1975.

Costin, A. y Hafemann, D. R. Relationship between oculomotor nucleus and lateral geniculate body monophasic waves. *Experimentia* (Basel). 26:872-873, 1970.

Dement WC. Eye movements during sleep. Ed :The oculomotor system. In Beneder M. Ed. Harper and Row. New york. Ch 17, pp 366-416, 1964.

Hartmann, E. M. D. The biology of dreams. Charles C. Thomas. Publisher. (Ed.) 206 p, 1967.

Hobson, J.A. L'a activité électrique phasique du cortex et du thalamus au cours du sommeil desynchronisé chez le chat. *Soc. Biol. Lyon.* 1, 2131-2135, 1964.

Hobson, J. A. The effect 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. A. The cellular basis of sleep cycle control. In: *Advances in Sleep Research*, Ed. E. Witzman. pp. 217-250. Spectrum, New York, 1974.

Hobson J. A. Golberg, M., Vivaldi. E. y Riew, D., Enhancement of desynchronized sleep signs after potine microinjection of the muscarinic agonist bethanechol. *Brain Research*, 275 :127-136, 1983.

Jeannerod, M., Mouret, J., y Jouvet, M. Effets secondaires de la deafferentation visuelle sur l'activité électrique phasique ponto-géniculo-occipitale du sommeil paradoxal. *J. Physiol. (Paris)* 57:255-256, 1965.

Jones, B. E. y Beudet, A. Distribution of acetylcholine and catecholamine neurons in the cat brainstem: a choline acetyltransferase and tyrosine hydroxylase immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.* 261:15-32 1987.

Jones B. E. y Webster H. H. Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. I. Effects upon the cholinergic innervation of the brain. *Brain Research*, 451 13-32, 1988.

Jouvet M, y Michel, F. Correlations électromyographiques du sommeil chez le chat decortiqué et mésencéphalique chronique. *C. R. Soc. Biol.* 153, 422-425, 1959.

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

Kanamori, N. , Sakai, K. y Jouvet M. Neuronal activity specific to paraxial sleep in the ventromedial medullary reticular formation of unrestrained cats. *Brain Res.* 189, 251-255, 1980.

Kimura H, Maeda T. Aminergic and cholinergic systems in dorsolateral pontine tegmentum. *Brain Res. Bull.* 9:493-9, 1982.

Lydic, R., McCarley, R. W. y Hobson, J. A., The time-course of dorsal raphe discharge, PGO Waves, and muscle tone averaged across multiple sleep cycles. *Brain Res.* 274: 365-370, 1983.

McGeer E. G., McGeer P. L. y Singh. Kainic-induced degeneration of neocortical neurons: dependency upon corticostriatal tract. Brain Res. 139: 381-383, 1978.

Magoun. H. W. y Rhines. R. An inhibitory mechanism in the bulbar reticular formation. J. Neurophysiol. 9:165-171, 1946.

Manjarréz, M. J., García, R.M. y Alvarado, C. R., Efecto de la lesión del núcleo parabraquial lateral y del AX sobre la actividad PGD. XXVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Universidad Autónoma de Puebla, P. 267, 1985.

Martin GF, Hubertson AO, Jr. Laxon LC, Panneton WM, Tschismadia I. Spinal projections from the mesencephalic and pontine reticular formation: a study using axonal transport techniques. J. Comp. Neurol. 187, 373-400, 1979.

Meldrum B. S. Metabolic factors during prolonged seizures and their relation to nerve cell death. In Status Epilepticus Mechanisms of Brain Damage and treatment (eds Delgado-Escueta A. V., Wansterlain C. G., Treiman D. M. y Porter R. J.) Advances in Neurology, vol. 34, pp. 261-275. Raven Press. New York, 1983.

Mikiten, T. M., Niebyl, P.H., y Hendley, C.D. EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharges from the thalamus of the cat. Fed. Proc. 20:327, 1961.

Mora, C. A. Análisis comparativo de los efectos agudos del ácido kainico en el área x y el campo tegmental gigante-celular sobre la actividad ponto-geniculo-occipital (PGO), en gato reserpinizado. Tesis Profesional Fac. Ciencias, UNAM. pp 87-92, 1987.

Morales, F. y Chase, M. H., Intracellular recording of lumbar motoneuron membrane potential during sleep and wakefulness, *Exp. Neurol.*, 821-827, 1978.

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.

Nadler J. V. , Evenson D. A: y Smith E. M. Comparative toxicity of kainic acid and other acidic amino acids toward rat hippocampal neurons. *Neurosciences* 6:2505-2517, 1981.

Nadler, J.V., Perry, W.B., y Cotman, W.C. Preferential vulnerability of Hippocampus to intraventricular Kainic Acid. *Kainic Acid a Tool in Neurobiology*. Eds. Mc Geer, E. et al. Raven Press, New York pp. 219-239, 1978.

Diney J. W., Rhee V. y Ho D. L. Kainic acid: a powerful neurotoxic analog of glutamate. *Brain Res.* 77: 507-512, 1974.

Olney J. W. y De Gubarff T. Extreme sensitivity of olfactory cortical neurons to kainic acid toxicity. In Kainic Acid as a Tool in Neurobiology Eds. McGeer E. G., Olney J. W. y McGeer P.L., Raven Press, New York. pp. 201-217, 1978.

Oleszewski, J. The cytoarchitecture of the human reticular formation, in Brain mechanisms and consciousness. Ed. J. F. Delafresnaye, Blackwell Scientific Pub. Oxford, 1954.

Oswald I. Sleeping and Waking. Physiology and psychology. 1962, Amsterdam, Elsevier.

Roffwarg Hp, Clark R.W. Guilleminault C. et al: Diagnostic classification of sleep and arousal disorders. Sleep 2:1, 1979.

Sakai, K., y Caspublio, R. Evidence for the presence of eye movement potentials during paradoxical sleep in cats. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 41:37-48, 1976.

Sakai, K., y Jouvet, M. Brain stem PGO-on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. Brain Res. 194:500-505, 1980.

Sakai K, Sastre JP, Kanamori N. Jouvet M State-specific neurons in the ponto-medullary reticular formation with special reference to the potural atonia during paradoxical sleep in the cat. In: Pompeiano O, Ajmone Marsan C (eds) Brain mechanisms and perceptual Awareness. Raven Press, New York, pp, 405-429, 1981.

Scheibel ME, Scheibe AB: Anatomical basics of attention mechanisms in vertebrate brains. In Quarten G, Melnechuk T, Schmitt Fo. eds. The neurosciences (Estudy Program.) New York. Rockefeller University Press. pp 577-602, 1967.

Schwarcz R. y Fuxe K. 3H Kainic binding: relevance for evaluating the neurotoxicity of kainic acid. Life Sci. 24 :1471-1480, 1979.

Schwarcz R. y Kohler C. Evidence against an exclusive role of glutamate in kainic acid neurotoxicity. Neurosci. Lett. 19, 243-249, 1980.

Schwob J. E. Fuller T., Price J. L. y Olney J. W. Widespread patterns of neuronal damage following systemic or intracerebral injections of kainic acid: a histological study. Neuroscience 5:991-1014, 1980.

Shinozaki H. y Kinishi S. Actions of several anthelmintics and insecticides on rat cortical neurons. Brain Res. 24:368-371, 1980.

Simon, R., Gershon, M. D. y Brooks, D. C. The role of the rostral nuclei in regulation of PGO wave activity. Brain Res. 58:313-330, 1973.

Snyder F: The new biology of dreaming. Arch. Gen. Psychiatry 8:381, 1963.

Steriade. M. y Hobson J. A. Neuronal activity during the sleep-waking cycle. *Progr. Neurobiol.* 6:355-376, 1976.

Steriade M, Saki K y Jouvet M. Bulbo-thalamic neurons related to thalamocortical activation processes during paradoxical sleep. *Exp. Brain Res.* 54: 463-75, 1984.

Takemoto T. Isolation and structural identification of naturally occurring excitatory amino acids. In *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology* Eds. McGee E. G., Onley J. W. y McGee P.L., Raven Press, New York. pp. 1-15, 1978.

Thomas, J., y Benoit, O. Individualisation d'un sommeil à ondes et activité phasique. *Brain. Res.* 5:221-235, 1967.

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

Webster H. H., Friedman L. y Jones B. E. Modification of paradoxical sleep following transections of the reticular formation at the pontomedullary junction. *Sleep* 9(1): 1-23, 1986.

Webster H. H. y Jones B. E. Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell in cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Res.* 458:285-302, 1988.

Wayne W. Daniel *Biostatística base para el análisis de las ciencias de la salud.* 3ed. editorial LIMUSA. pag. 254-260, 1987.

Wuerthele S. M., Lovell K. L., Jones M. Z. and Moore K. E. A histological study of kainic acid-induced lesions in the rat brain. Brain Res. 149, 489-497, 1978.