



03062

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

INSTITUTO DE FIOLOGIA CELULAR

PROYECTO DE POSTGRADO EN INVESTIGACION BIOMEDICA BASICA
AREA: NEUROCIENCIAS

CAMBIOS EN LA EXPRESION DEL PROTO-ONCOGEN
c-fos EN EL TALLO CEREBRAL EN RELACION
A LA DURACION DEL SUEÑO MOR.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN INVESTIGACION
BIOMEDICA BASICA
P R E S E N T A E L
B I O L O G O
HUGO L MERCHANT NANCY

DIRECTOR DE TESIS: DR. RENE DRUCKER COLIN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1993



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

	Página
RESUMEN	
ABREVIACIONES	
1) INTRODUCCION	1
2) CARACTERISTICAS GENERALES DEL CICLO VIGILIA-SUEÑO	2
3) NEUROFISIOLOGIA DEL CICLO VIGILIA-SUEÑO	11
3.1) VIGILIA (V)	11
3.2) SUEÑO LENTO (SL)	17
3.3) SUEÑO MOR (SMOR)	25
3.3.1) DESINCRONIZACION CORTICAL	30
3.3.2) ACTIVIDAD THETA HIPOCAMPAL	31
3.3.3) ATONIA MUSCULAR	31
3.3.4) ESPIGAS PONTO-GENICULO-OCCIPITALES	33
4) PROCESAMIENTO SENSORIAL DURANTE EL SUEÑO	37
5) EFECTOS DE LA ESTIMULACION SENSORIAL SOBRE EL SUEÑO	41
6) REBOTE DE SUEÑO POSTERIOR A LA PRIVACION	51
7) EXPRESION DE PROTO-ONCOGEN c-fos COMO MARCADOR DE LA ACTIVACION METABOLICA NEURONAL	58
8) OBJETIVO	63
9) ARTICULO ANEXO	64
10) MATERIAL Y METODO	71
11) RESULTADOS	77
12) DISCUSION	91
13) CONCLUSIONES	107
14) BIBLIOGRAFIA	108

RESUMEN

La estimulación auditiva (EA) aplicada durante el sueño MOR (SMOR) induce un aumento en la duración de esta fase de sueño. Este efecto también es observado durante el periodo de recuperación o rebote, posterior a la privación selectiva de SMOR (PS). Recientemente, experimentos de actividad unitaria han demostrado que el aumento en el SMOR inducido por estas dos manipulaciones, depende de un aumento en el nivel de excitabilidad de varias estructuras del tallo cerebral.

Por otro lado se ha observado que la expresión de Fos, proteína codificada por el proto-oncogen c-fos, esta íntimamente ligada a la activación neuronal de segundos mensajeros. Asimismo, la utilización de la inmunohistoquímica para Fos (IF), ha sido útil en la construcción de mapas cerebrales, que reflejan activación postsináptica con una resolución celular.

En el presente trabajo se utilizó la IF para cuantificar el número de neuronas por estructura, que expresan c-fos en el tallo cerebral, en animales con periodos de SMOR normales o con una duración manipulada de manera experimental (por EA o PS).

Los resultados del presente estudio mostraron una relación entre el aumento en el SMOR inducido por la EA o la PS y el incremento en la IF, en aquellas estructuras que previamente se ha demostrado, poseen neuronas altamente activas durante SMOR (REM-ON). Además, las estructuras del sistema monoaminérgico, cuya actividad se encuentra al mínimo durante SMOR (REM-OFF), mostraron una disminución en la expresión de c-fos relacionada con la privación de SMOR. En contraste, el sistema monoaminérgico

no mostró cambios en la IF relacionados con la duración del SMOR.

Estos resultados sugieren que el aumento en la duración del SMOR inducido por la EA o la PS, está relacionado con un incremento en el número de células activas, en varias estructuras que poseen células REM-ON en el tallo cerebral. Asimismo, los resultados obtenidos sugieren que la privación selectiva de SMOR produce una disminución en la capacidad de respuesta del sistema monoaminérgico del tallo cerebral, fenómeno que posiblemente desempeña un papel importante en el rebote de sueño. Por último, los resultados corroboran que el sistema monoaminérgico no está involucrado activamente en el mantenimiento del SMOR.

ABREVIACIONES

- CCK = Colecistocinina (Péptido).
- EA = Estimulación auditiva.
- EEG = Electroencefalograma.
- EMG = Electromiograma.
- EOG = Electrooculograma.
- FRB = Formación reticular bulbar.
- FRM = Formación reticular mesencefálica.
- FRP = Formación reticular pontina.
- GABA = Acido gamma-aminobutírico.
- IF = Inmunohistoquímica para Fos.
- LC = núcleo Locus Coeruleus.
- LCa = núcleo Locus Coeruleus alfa.
- LCR = Líquido cefaloraquídeo.
- LDTG = núcleo Laterodorsal Tegmental.
- Mc = núcleo Magnocelular del bulbo.
- MCID = analizador computarizado de imágenes.
- NE = Noradrenalina.
- PB = núcleo Parabraquial lateral.
- PCPA = Paraclorofenilalanina.
- PCR = núcleo Parvocelular del bulbo.
- PGO = espiga ponto-geniculo-occipital.
- PGO-ON = neurona que se activa pocos milisegundos antes de la aparición de una espiga PGO.
- pLC = núcleo perilocus Coeruleus.
- PM = núcleo Paramedial del bulbo.
- PPT = núcleo Pedunculo Pontino.

PS = Privación de sueño MOR.
RD = núcleo Rafe Dorsal.
REM-ON = neurona que presenta una marcada activación tónica durante sueño MOR.
REM-OFF = neurona principalmente activa durante la vigilia.
RM = núcleo Rafe Medial.
RMAG = núcleo Rafe Magnus.
RO = núcleo Rafe Oscuro.
RPAL = núcleo Rafe Pálido.
RPON = núcleo Rafe Pontis.
RT = núcleo Reticular Talámico.
SL = Sueño de ondas lentas.
SMOR = Sueño de movimientos oculares rápidos.
SRAA = Sistema reticular activador ascendente.
SUBCD = núcleo SubCoeruleus dorsal.
SUBCV = núcleo SubCoeruleus ventral.
TSOL = núcleo del Tracto Solitario.
V = Vigilia.
VIP = Polipéptido Vasoactivo Intestinal.
2DG = 2-Desoxiglucosa.
5-HT = 5-Hidroxitriptamina o serotonina.

INTRODUCCION

A lo largo de la historia, el ser humano se ha preocupado por el fenómeno del sueño. El proceso de dormir, que ocupa un 30 % de nuestras vidas, fue de gran interés para diversas civilizaciones que escribieron sobre el sueño, los remedios para el insomnio y la interpretación de los sueños. Once siglos antes de nuestra era, los hindúes describieron de forma acertada dos fases de sueño; una fase tranquila, en la que la mente no tenía influencia del organismo y otra, en la que se presentaban las ensoñaciones (ver Horne, 1988).

En la actualidad se define al sueño (Encyclopedia of Neuroscience (Adelman, G., 1987)) como: "un estado conductual definido por cambios característicos en la postura, un aumento en el umbral sensorial y signos electrográficos distintivos".

Esta definición es el resultado de un gran número de estudios sistemáticos que empezaron a finales del siglo XIX y a principios del siglo XX, cuando Pieron y sus colaboradores describieron las modificaciones conductuales que sufren los perros cuando duermen (ver Borbely y Tobler, 1989). Posteriormente, en 1929, Hans Berger desarrolló el primer electroencefalógrafo (citado en Drucker-Colin y col, 1990). Este aparato permitió registrar la actividad eléctrica cerebral en relación al sueño, quedando atrás la sola descripción visual de la conducta en el estudio el ciclo vigilia-sueño. A partir de entonces, numerosos trabajos fueron realizados hasta que en 1953 Aserinsky y Kleitman demostraron que el sueño no es un estado uniforme y, que al contrario de lo que se pensaba, está compuesto

por patrones que varían conforme el individuo duerme. Estos investigadores describieron una fase de sueño en la que se presentan movimientos oculares y desincronización cortical, a la cual denominaron sueño de movimientos oculares rápidos o MOR. La fase de sueño MOR es posterior al sueño con sincronización electroencefalográfica, descrito años atrás (Loomis y cols., 1935).

Por su alta activación electroencefalográfica y por estar asociado con las ensoñaciones, el sueño MOR ha sido ampliamente estudiado. Sin embargo, después de 40 años de trabajo todavía no se puede indicar la función ni el mecanismo neural que regula al sueño MOR y a las otras fases de sueño con las que interactúa, en el denominado ciclo vigilia-sueño.

CARACTERISTICAS GENERALES DEL CICLO VIGILIA-SUEÑO

Actualmente la comunidad científica ha unificado los criterios que permiten definir las diferentes fases del ciclo vigilia-sueño, que son reconocidas a partir de la observación de la conducta y del registro de los siguientes patrones poligráficos: 1) La actividad neocortical electroencefalográfica (EEG), 2) Los movimientos oculares (la representación de la actividad motora fásica (EOG)) y 3) La actividad muscular fásica y tónica , registrada a través del electromiograma o EMG. Estas variables fueron las bases para el desarrollo de manuales que permiten evaluar el ciclo vigilia-sueño en la rata, el gato y el humano. El gato ha sido el mamífero más utilizado en el estudio del sueño, ya que presenta patrones poligráficos semejantes al humano (ver figura 1). Según el manual de Ursin y Sterman (1981),

en este animal el ciclo vigilia-sueño se divide en:

1) Vigilia. La cabeza del animal se encuentra levantada, las pupilas presentan midriasis y las membranas nictitantes se retraen. Se observa, además, una desincronización cortical, caracterizada por una actividad de bajo voltaje (inferior a los 50 uv) y rápida (20 a 30 Hz). La actividad del EMG refleja una gran actividad muscular.

2) Sueño Lento. El animal se encuentra tendido sobre el vientre, los ojos permanecen cerrados y las membranas nictitantes se encuentran relajadas. La actividad en el EMG disminuye, pero no desaparece. En el EEG se observan husos de sueño de 8 a 16 Hz, que se asocian a una actividad sincrónica de ondas lentas (2 a 4 Hz y de 150 a 200 uv).

3) Sueño MOR. Durante esta fase el animal se recuesta de lado sobre sí mismo. Se presenta una desincronización cortical parecida a la vigilia, en la cual el EEG presenta una mezcla de frecuencias entre los 20 a 30 Hz, que es de bajo voltaje: 20 a 30 uv. Existe una pérdida del tono muscular acompañada de mioclonías en las extremidades, vibrisas y orejas. Además, se observan movimientos oculares rápidos que pueden ser laterales, verticales y oblicuos. Dentro de los parámetros que definen al SMOR se encuentran espigas monofásicas que se registran en el puente, el cuerpo geniculado lateral y la corteza occipital, denominadas espigas ponto-genículo-occipitales o PGO.

La rata ha sido otro de los mamíferos que se han utilizado en el estudio del sueño. En este animal se distinguen las mismas fases que en el gato, por lo que el ciclo vigilia-sueño (Takeuchi, 1970) se divide en:

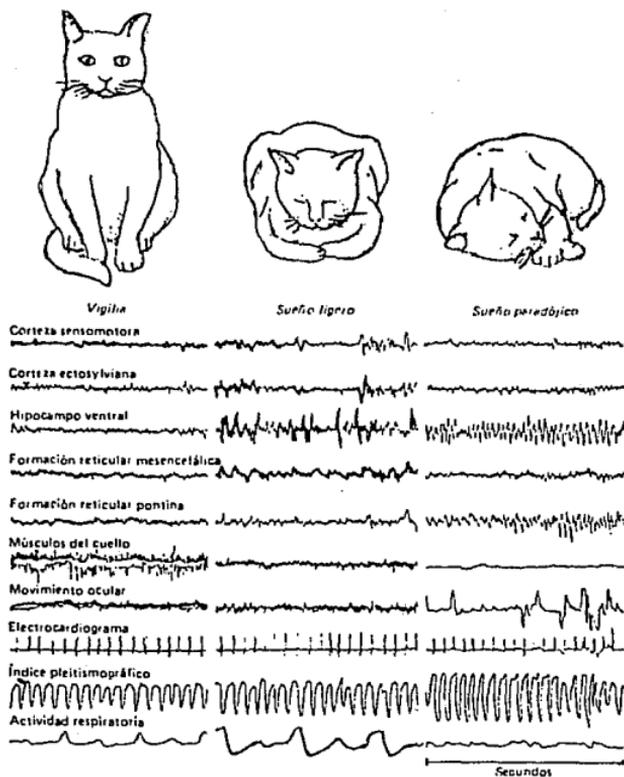


Fig. 1. Características Electropolisomnográficas de la vigilia, el sueño ligero o lento y el sueño paradójico o MOR. Obsérvese la similitud en la desincronización cortical entre la vigilia y el sueño paradójico, así como la atonía muscular y los Movimientos Oculares durante éste último. (Tomada de Jouvet, 1967).

1) Vigilia (V): está acompañada por una actividad rápida en el EEG con frecuencias entre los 10 a los 20 Hz y con una amplitud de 30 a 50 uv. El EOG y EMG presentan una actividad alta, que es dependiente de la conducta del animal.

2) Sueño Lento (SL): se observan husos de sueño en el EEG, caracterizados por una frecuencia de 10 a 13 Hz, asociados a una actividad lenta de alto voltaje (100 a 200 uv).

3) Sueño MOR (SMOR): esta fase de sueño se caracteriza por una actividad theta hipocampal marcadamente rítmica, cuya frecuencia varía entre 6 a 9 Hz. Además el EEG presenta una actividad rápida y de baja amplitud. EL EOG presenta una actividad en salvas y el tono muscular se pierde, aunque también se observan mioclonías. La rata se mantiene durante el SL y el SMOR sobre su vientre, con las cuatro patas flexionadas y la cabeza inclinada sobre el tórax.

La cantidad de sueño y la forma en que se distribuyen las diferentes fases del ciclo vigilia-sueño puede variar dependiendo de la especie. El hombre tiene un ciclo bifásico bien definido: presenta vigilia durante el día y duerme durante la noche. El gato y la rata son animales policíclicos, por lo que alternan la vigilia con periodos de sueño a lo largo de las 24 horas del día. Por otro lado, la forma en que se suceden las fases del ciclo vigilia-sueño en los mamíferos es constante; cada ciclo empieza con la vigilia, sigue con el SL y finalmente aparece el SMOR. Sin embargo, después del SL el individuo no necesariamente presenta SMOR, ocasionalmente se despierta (para revisión ver Zepelin, 1989). Es importante aclarar que el SL siempre precede al SMOR, a excepción de casos patológicos como

la narcolepsia, en los que el SMOR se presenta después de la vigilia (Guilleminault y col, 1974).

El sueño es un fenómeno que está regulado por tres procesos: el homeostático, el circádico y el ultradiano. Estos procesos son independientes, pero operan en conjunto para determinar cuándo y qué cantidad de sueño debe presentarse, en condiciones normales (ver figura 2). El proceso homeostático depende de las cuotas previas de sueño. La presión de sueño aumenta o disminuye de manera inversamente proporcional a la cantidad de sueño anterior, de tal forma que cuando un individuo se mantiene más tiempo en vigilia, más presión de sueño tiene y una vez que empieza a dormir esta presión disminuye. El proceso circádico es independiente de la ocurrencia de sueño, aumentando la presión de sueño cada 24 horas sin que la información del medio modifique su aparición. Por último, el proceso ultradiano regula la forma en que se alternan el SL y el SMOR durante un día, induciendo que la distribución de las fases de sueño no sea homogénea a lo largo de 24 hr. La aparición de SL o SMOR se da cuando la presión de sueño de los procesos homeostático, circádico y ultradiano llega al máximo (Borbely y Tobler, 1985). Se ha demostrado que lesiones bilaterales del núcleo supraquiasmático (estructura que regula los ritmos circádicos) abolen la periodicidad del sueño, pero no modifican la cuota diaria de este fenómeno, indicando que los procesos circádico y homeostático son independientes entre sí (Boberly y col., 1989).

Por otra parte, durante las fases de sueño no solamente ocurren cambios en los patrones polisomnográficos, también se

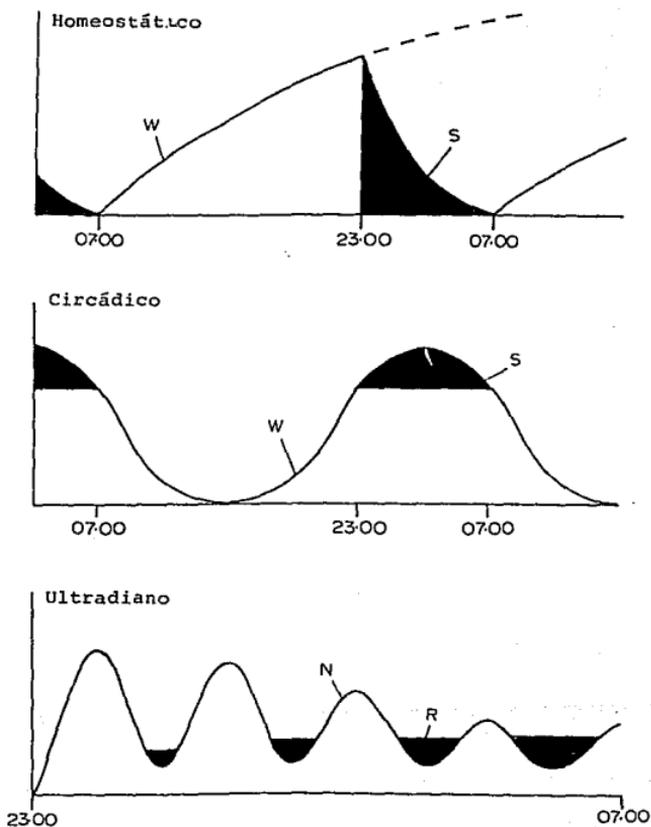


Fig. 2. En esta figura se muestran los 3 procesos que regulan el sueño: homeostático, circádico y ultradiano.

W = VIGILIA
 S = SUEÑO
 N = SUEÑO LENTO
 R = SUEÑO MOR

(Tomada de Borbély y col, 1989)

presentan modificaciones en algunas variables fisiológicas del organismo:

1) Sistema endócrino: se ha observado un incremento significativo en la secreción de la hormona de crecimiento y de la prolactina a lo largo del SL, aún cuando se modifica la hora en la que se comienza a dormir (Sassin .pn 8 y col., 1969 y.1972). La hormona luteinizante y la testosterona presentan un ligero aumento durante el SMOR (Wagner y Weitzman, 1980). Además la liberación de la hormona estimulante de la tiroides y del cortisol disminuye durante SL (Parker y col, 1980).

2) Termoregulación: durante el SL se observa una disminución en la temperatura corporal y cerebral, sin que el organismo pierda su capacidad de mantener la homeostasis en la temperatura (Parmeggiani, 1980). Durante el SMOR se presenta una pérdida en la capacidad de termoregulación, aunque se observa un aumento en la temperatura cerebral (Parmeggiani, 1977).

3) Control respiratorio: la frecuencia respiratoria se regulariza y disminuye durante el SL. Existe, además, un ligero incremento en la presión de CO₂ y disminuye la respuesta de ventilación al CO₂ (Phillipson, 1977). Sin embargo, durante el SMOR la frecuencia respiratoria se vuelve irregular. La sensibilidad al CO₂ se pierde durante los segmentos de SMOR con movimientos oculares o con mioclonías (Sullivan y col., 1979) .

4) Frecuencia Cardíaca y Presión Sanguínea: estas dos variables disminuyen significativamente durante el SL. A lo largo de SMOR, la frecuencia cardíaca se vuelve irregular. En cambio, la presión sanguínea tiene un disminución tónica y aumenta fásicamente durante los trenes de movimientos oculares (Gassel y col., 1964).

Por otro lado, se ha observado que existen modificaciones en la cantidad y la ritmicidad del sueño a nivel ontogenético. Los neonatos presentan mayor cantidad de sueño total, en particular de la fase clasificada como SMOR, en relación a un adulto (Dreyfus-Brisac, 1979). Además el ritmo circádico del sueño no se encuentra bien definido en las primeras etapas de la vida (Navelet y col., 1982). Por otro lado, se ha demostrado que en sujetos de edad avanzada existe una disminución del SMOR y un aumento en la vigilia, aunado a la pérdida del ritmo circádico de este fenómeno (Kales y col., 1967).

Varios estudios de conducta han demostrado la presencia de un ciclo de actividad-reposo a lo largo de la escala filogenética animal, sugiriendo que este ciclo está relacionado con el ciclo vigilia-sueño observado en mamíferos (Campbell y Tobler, 1984). Sin embargo, los patrones polisomnográficos que definen al SL se observan a partir de los reptiles y aquéllos que definen al SMOR a partir de las aves (Tauber, 1974; Tobler, 1984).

Los estudios de sueño a nivel filogenético han cuestionado la definición de sueño hecha a partir de los datos en mamíferos. Se ha sugerido que la observación de la conducta y no los índices electrográficos es el parámetro de evaluación más confiable del ciclo vigilia-sueño, sobre todo si se consideran: 1) las diferencias en la estructura y función del sistema nervioso entre las diferentes especies (Tobler, 1984) y 2) la falta de correlación entre el estado conductual y los patrones electropolisomnográficos observada recientemente en mamíferos (Vanderwolf y Robinson, 1981). Aunque se ha sugerido en los

estudios de filogenia que los patrones polisomnográficos no son siempre confiables, la neurobiología de las diferentes fases del ciclo vigilia-sueño en los mamíferos, ha sido estudiada con base en estos patrones con buenos resultados.

Como se ha podido observar cada fase del ciclo vigilia-sueño es en sí misma un proceso multifactorial, donde ocurren una gran cantidad de cambios a nivel periférico y central. Sin embargo, estas fases se encuentran en íntima interacción durante la vida de un organismo. Por lo tanto, cuando se estudia la neurobiología del SMOR es importante tomar en cuenta que esta fase de sueño es un fenómeno que no se puede aislar del ciclo vigilia-sueño del que forma parte. Dentro de este contexto, en la siguiente sección se revisará la neurobiología de las diferentes fases del ciclo vigilia-sueño, con el objeto de tener un panorama más amplio de los procesos neurofisiológicos que caracterizan a cada fase, en especial al SMOR.

NEUROFISIOLOGIA DEL CICLO VIGILIA-SUEÑO

El mecanismo básico que regula los diferentes estados del ciclo vigilia-sueño ha sido estudiado por medio de diferentes aproximaciones de carácter interdisciplinario. De esta forma, desde hace 50 años la neurofisiología, la neuroanatomía y la neuroquímica han sido disciplinas que han aportado datos para en el entendimiento del ciclo vigilia-sueño. A continuación se revisará los posibles mecanismos neurales que controlan cada una de las fases del ciclo vigilia-sueño.

VIGILIA (V).

A principios de siglo muchos fisiólogos, entre ellos Kleitman (1939; citado en Jones, 1989), pensaban que la vigilia (V) se mantenía y era regulada por la entrada sensorial continua. Esta hipótesis se basaba en los estudios de transectos hechos por Bremer en 1929 (citado en Jouvet y Moruzzi, 1972), en los cuales al separar el bulbo raquídeo de la médula espinal se inducía un estado permanente con ondas lentas en el EEG. Años después Moruzzi y Magoun (1949) demostraron que la estimulación eléctrica de la formación reticular del tallo cerebral, pero no de las vías sensoriales, produce un estado de alertamiento y V en animales que se encontraban dormidos, denominado despertar electroencefalográfico. Estos investigadores postularon la existencia del Sistema Reticular Activador Ascendente (SRAA), cuya función es precisamente la activación cortical durante la V, la cual entonces no depende de la entrada sensorial continua. En la Actualidad se piensa que el mecanismo que regula la vigilia es mucho más complejo de lo que estos investigadores proponían.

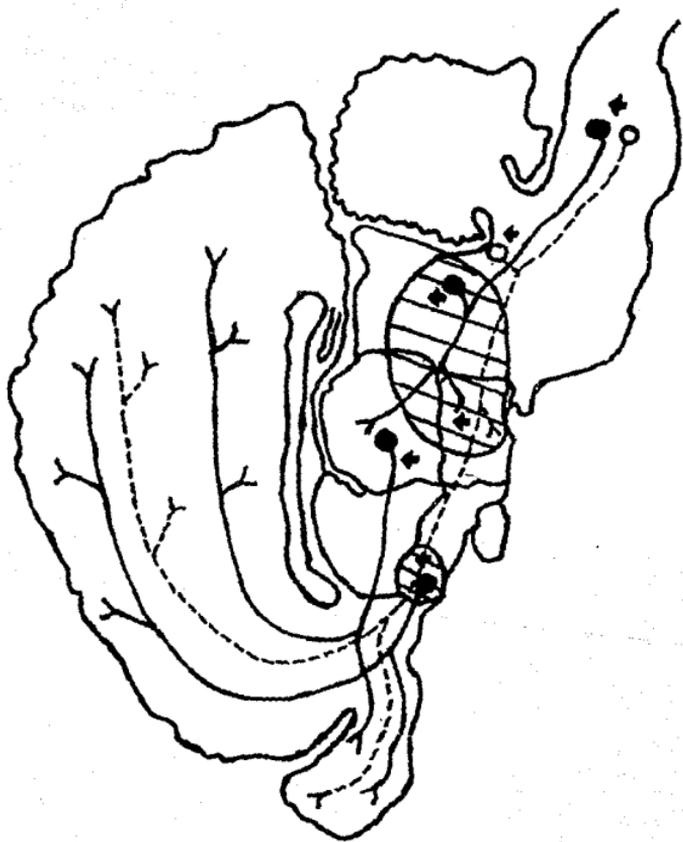


FIGURA 3

Esquema que representa un corte sagital (2.5 mm lateral a la línea media) de un cerebro de gato, en el cual se muestran los sistemas neurales involucrados en el mecanismo de la vigilia. En este esquema se sugiere que la formación reticular manda fibras ascendentes a través de dos rutas. Las líneas punteadas señalan la ruta ventral monoaminérgica, que se origina en los núcleos serotoninérgicos y noradrenérgicos del tallo cerebral, y que proyectan y activan al hipotálamo, subtálamo y cerebro basal. La ruta dorsal mostrada en líneas continuas, tiene su origen en los núcleos colinérgicos del puente y el mesencéfalo, los cuales mandan aferentes al tálamo, que a su vez inerva a la corteza. Las flechas hacia arriba indican las estructuras que se activan durante la vigilia y cuya estimulación induce despertar y alertamiento. Las regiones marcadas con líneas transversales, corresponden a las regiones cuya lesión abole la vigilia.

● Somas Colinérgicos.

○ Somas Monoaminérgicos.

↑ Estructuras Activas.

▨ Zona cuya lesión produce somnolencia.

Varios estudios a nivel neuroanatómico han demostrado que existen tres estructuras principales que mandan proyecciones difusas a la corteza cerebral, y que mantienen la activación tónica cortical y la V: los núcleos mediales e intralaminares del tálamo, los núcleos magnocelulares del cerebro basal y el hipotálamo posterior (ver figura 3) (Kievit y Kuypers, 1975; Pearson y col, 1983; Monier y col, 1960).

En un inicio, con experimentos de estimulación eléctrica y de lesiones en la formación reticular se demostró que el SRAA se extiende desde el tegmento oral pontino y la formación reticular mesencefálica hasta el hipotálamo posterior y el subtálamo (Jouvet y Moruzzi, 1972). La destrucción de estas estructuras, que tienen una amplia proyección ascendente a los núcleos medial e intralaminares del tálamo, produce los efectos más permanentes y marcados sobre la V, es decir, produce una sincronización permanente del EEG (Lindsley y col, 1950).

En estudios más detallados se demostró que la formación reticular recibe eferentes colaterales de las vías sensoriales específicas y viscerales (Siegel, 1979), y que proyecta fibras al diencéfalo y el telencéfalo, a través de dos grandes rutas. La ruta dorsal está formada por fibras ascendentes colinérgicas de la formación reticular pontomesencefálica que terminan principalmente en los núcleos intralaminares y mediales del tálamo (Jones y Beaudet, 1987). La ruta ventral está constituida por fibras noradrenérgicas y serotoninérgicas que activan el EEG a través de sus proyecciones tanto al hipotálamo, subtálamo y al cerebro basal, como directamente a la corteza y al hipocampo (Jones y Yang, 1985; Steinbush, 1984).

Las fibras de la ruta dorsal se originan en los núcleos colinérgicos pedunculo pontino (PPT) y laterodorsal tegmental (LDTG) de la transición pontomesencefálica, que presentan una alta actividad durante la desincronización cortical (El Mansari y col, 1989). Estos núcleos modulan la actividad talámica a través de dos mecanismos. El primero es el inhibir mediante receptores muscarínicos, la actividad sincrónica espontánea de las células gabaérgicas del núcleo reticular talámico (RT); y el segundo es la excitación de las células talámicas que proyectan a la corteza mediante dos procesos: uno tónico que consiste en la despolarización membranal inducida por receptores muscarínicos y otro fásico caracterizado por potenciales excitatorios postsinápticos (EPSPs) y potenciales de acción, mediado por receptores nicotínicos (Steriade y Llinás, 1988).

Como se observa en la figura 3, las fibras de la ruta ventral parecen tener una influencia extratalámica, en la activación del EEG y la V, más importante que en el caso de la ruta dorsal, ya que presentan un gran número de proyecciones difusas al hipotálamo, el cerebro basal y la corteza (Jones, 1989). Los núcleos locus coeruleus (LC) y rafe dorsal (RD), uno noradrenérgico y el otro serotoninérgico, presentan una frecuencia de disparo máxima durante la vigilia, que disminuye durante SL y encuentra su mínimo durante SMOR (Hobson y col, 1975; McGinty y Harper, 1977), por lo que se sugiere tienen un papel activador selectivo de la V. Estas células se denominan REM OFF. Las fibras noradrenérgicas y serotoninérgicas que proyectan a la corteza inducen la reducción de la adaptación en

la frecuencia de disparo que sufren las neuronas neocorticales, al bloquear la corriente de posthiperpolarización de K (McCormick, 1989). Este fenómeno es uno de los factores más importantes en el incremento "señal-ruido" en el procesamiento de información en la corteza, modulado por las monoaminas (Foehring y col, 1988). Sin embargo, hasta el momento no se ha determinado el papel funcional de la ruta ventral en la activación de la corteza y la vigilia.

Adicionalmente, se ha demostrado que el hipotálamo posterior, estructura cuya lesión produce somnolencia continua (Nauta, 1946), manda fibras histaminérgicas difusas a la corteza y al tálamo, formando parte también del sistema regulador de la vigilia (Lin y col, 1988). Además se ha indicado que la microinyección de muscimol, un agonista gabaérgico, induce un estado permanente de SL, que perdura varias horas. La región tubero-infundibular del hipotálamo contiene una gran cantidad de neuronas histaminérgicas, que tienen una actividad neuronal parecida a las del LC y RD, es decir son REM OFF (Sakai y col.,1990). Es probable que estas células histaminérgicas tengan un papel semejante al de la noradrenalina (NE) y la serotonina (5-HT), sin embargo la capacidad moduladora de la histamina en la corteza y el tálamo no han sido estudiadas.

Por último, se ha demostrado que la estimulación eléctrica del núcleo de Meynert y de la sustancia inominata, núcleos colinérgicos del cerebro basal que proyectan directamente a la corteza y al tálamo (Saper, 1985), induce una activación cortical y alertamiento por lo que también han sido incluidos en el sistema regulador de la V. La influencia colinérgica del

cerebro basal induce una depolarización a largo plazo de las células neocorticales mediada por receptores muscarínicos, que reduce la corriente de K (Madison y col, 1987). Además, se ha observado que la frecuencia máxima de disparo de las neuronas colinérgicas del cerebro basal se correlaciona con la desincronización cortical y que la lesión con ácido kainico de esta zona reduce el alertamiento y la capacidad de regular la temperatura (Szymusiak y McGinty, 1989 y 1986; Szymusiak y Satinoff, 1984). Recientemente se ha demostrado que la microinyección de muscimol en esta región también produce un estado de sincronización en el EEG y SL, que perdura durante varias horas (Sakai y col, 1990).

En resumen, el mecanismo neuronal que regula la vigilia presenta varios sistemas interdependientes que actúan a nivel talámico y extratalámico para modular la actividad cortical de esta fase. Sin embargo, es importante aclarar que estos sistemas no son indispensables per se para la generación y el mantenimiento de la vigilia. Los estudios de transectos y de lesiones con neurotóxicos han demostrado que estos tres grandes sistemas activadores durante la vigilia, pueden ser desconectados de la corteza o ser destruidos sin que la vigilia desaparezca por completo (Moruzzi y Jouvett, 1972; Denoyer y col, 1991; Szymusiak y McGinty, 1986).

SUEÑO LENTO (SL).

Como ya se mencionó, a principios de siglo se aceptaba la existencia de un sistema activador que mantenía la vigilia, por lo que además, se consideraba al sueño como resultado de la

fatiga o la disminución en la actividad del SRAA (Moruzzi y Jouvett, 1972). Esta teoría "pasiva" del sueño fué corroborada con los estudios de actividad unitaria, multiunitaria y de 2-Desoxiglucosa donde se demostró que durante SL existe una disminución en la actividad neuronal en la mayoría de las regiones cerebrales, incluyendo la corteza y el tálamo (Steriade y col, 1987; Ogawa y Kawamura, 1988; Ram y Frost, 1986). Sin embargo, la teoría pasiva del sueño fué refutada a partir de los experimentos en los que se mostró que transectos del tallo cerebral caudales a la formación reticular pontina inducen insomnio permanente (Batini y col, 1958 y 1959). Con base en estos resultados se sugirió que el sueño era resultado de la activación de ciertas estructuras localizadas en el tallo cerebral a nivel caudal.

La estimulación eléctrica de la formación reticular bulbar y del núcleo del tracto solitario (TSOL) inducen una inmediata sincronización cortical y posteriormente SL, por lo que se sugirió que estas estructuras pueden generar activamente esta fase de sueño (Magnes y col, 1961). A partir de la información anatómica se ha propuesto que el TSOL puede inducir SL por medio de dos mecanismos: por inhibición del SRAA o por activación del sistema límbico (Jones, 1990). Este núcleo manda una gran cantidad de proyecciones ascendentes a la Formación Reticular Pontina y Mesencefálica (FRP y FRM), como al núcleo parabraquial (PB) que a su vez inerva al sistema límbico, incluyendo al hipotálamo (Ricardo y Koh, 1978).

Por otro lado, se ha sugerido que el hipotálamo anterior y la corteza frontal son estructuras que juegan un papel activo en

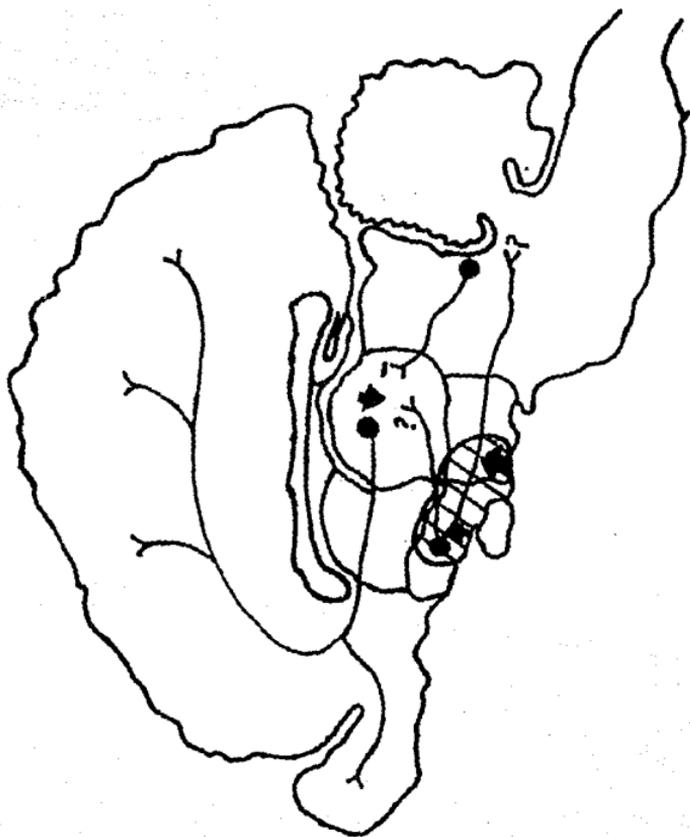


FIGURA 4

Representación de un corte sagital de cerebro de gato (2.5 mm lateral a la línea media) que indica el mecanismo neuronal que regula el Sueño Lento (SL). La flecha hacia abajo representa la hiperpolarización de los núcleos talámicos y la flecha hacia arriba el aumento en la actividad eléctrica de las estructuras en el hipotálamo anterior. Las líneas continuas indican la disminución en la actividad (-) de las fibras que viajan de la formación reticular mesencefálica hacia el tálamo. Las líneas punteadas representan las fibras descendentes del hipotálamo anterior hacia el tallo cerebral y el tálamo, y cuyo mecanismo inductor de SL no se conoce (?). La zona marcada con líneas transversales muestra la región del hipotálamo anterior y el área preóptica, que al ser lesionada induce insomnio.

Estructuras Activas.

Estructuras Inhibidas.

Zona cuya lesión induce insomnio.

la génesis del SL (ver figura 4). En los trabajos clásicos de Nauta (1946) y posteriormente de Sterman y Clemente (1962), se demostró que lesiones del area preóptica, la sustancia inominata y el núcleo de la banda diagonal de Broca inducen un insomnio permanente. Además se ha observado que la estimulación eléctrica del area preóptica induce somnolencia y SL en gatos (Sterman y Clemente, 1962a). Asimismo se ha demostrado la existencia de neuronas que aumentan su actividad selectivamente durante SL, tanto en el área preóptica, la sustancia inominata y la banda diagonal de broca, como en la amígdala y el núcleo de Meynert (Szymusiak y McGinty, 1986 y 1989).

La estimulación eléctrica de la corteza frontal también produce sincronización cortical y SL (Peñalosa y col, 1964). Además la lesión bilateral de esta estructura reduce permanentemente el SL (Villablanca y col, 1976). Se ha sugerido que la corteza frontal ejerce una influencia moduladora de estructuras hipnogénicas como el área preóptica, el cerebro basal o la amígdala, hasta el núcleo PB y el TSOL, a través de su amplias proyecciones descendentes (Van der Koody y col, 1984; Hobson y Steriade, 1986).

Sin embargo, aún con estos antecedentes, la importancia de las estructuras mencionadas en la regulación del SL está lejos de ser entendida de forma global.

Recientemente, Steriade y su grupo han postulado un sistema dual de generación del SL, es decir, por un lado existe una inhibición "activa" del complejo sistema activador cortical y por otro se presenta de manera "pasiva" una desfacilitación de las neuronas talámicas y corticales, que permite la expresión de sus

características electrofisiológicas intrínsecas y así la sincronización cortical y el SL (Steriade, 1992). El proceso activo, según estos investigadores, consiste en la inhibición parcial de las estructuras que modulan la influencia activadora cortical que mantienen la vigilia: el sistema colinérgico de la formación reticular, el hipotálamo posterior y el cerebro basal. Se ha demostrado que estas estructuras presentan una marcada disminución en su actividad neuronal durante SL (El Mansari y col, 1989; Sakai y col, 1990; Symusiak y McGinty, 1986). De manera interesante, la estimulación eléctrica de hipotálamo anterior induce la inhibición de la neuronas de la FRM y de las neuronas del hipotálamo posterior (Lineberry y Siegel, 1971). Además, la microinyección de muscimol en estas 3 estructuras induce SL durante varias horas (Sakai y col, 1990).

Una vez interrumpida la influencia de las estructuras activadoras corticales, se expresa el mecanismo pasivo de la sincronización del EEG y el SL. La sincronización electroencefalográfica es un estado donde varios osciladores como son las neuronas talamocorticales, se activan con la misma frecuencia gracias a la influencia del núcleo reticular talámico (RT), que actúa como un marcapaso (Steriade, 1981).

Como ya se mencionó la actividad del sistema colinérgico del tallo cerebral modula la transmisión talamocortical a través de: 1) la excitación directa de las células talamocorticales y 2) la inhibición de las neuronas gabaérgicas del núcleo RT (Steriade y col, 1987). Durante el SL la influencia colinérgica desaparece, lo que provoca una desinhibición de las neuronas gabaérgicas

reticulares, que a su vez producen una inhibición y una desfacilitación de las células talamocorticales (Steriade, 1989). Esto induce a su vez la expresión de las propiedades intrínsecas de estas células. Dentro de las propiedades intrínsecas de las talamocorticales se encuentran tres conductancias iónicas que desempeñan un papel central en la capacidad de oscilación de la actividad sincrónica talamocortical (Steriade y Llinás, 1988):

1) La conductancia voltaje-dependiente no-inactivante de Na, que genera a nivel somático una oscilación de 10 Hz al inducir una marcada depolarización, asociada a trenes de potenciales de acción, posterior a la hiperpolarización por la conductancia de K.

2) La espiga de Ca de bajo umbral. Esta espiga es un tren de espigas que también se genera a nivel somático y que sólo se observa cuando la membrana de la neurona talamocortical se encuentra hiperpolarizada, como normalmente ocurre en SL.

3) Conductancia de K dependiente de Ca. Esta conductancia es el último componente de una larga hiperpolarización en las neuronas talamocorticales inducida por la corteza, que induce un rebote postinhibitorio que termina con un tren de espigas. Esta corriente también induce oscilaciones cíclicas de las neuronas talamocorticales.

La capacidad oscilatoria de las neuronas talámicas que proyectan a la corteza es controlada y sincronizada por un sistema externo: las neuronas reticulares talámicas, que por su difusa conexión con todos los núcleos talámicos puede modular la actividad global del tálamo (Steriade y col, 1984 y 1985). Las neuronas reticulares son gabaérgicas e inducen una marcada

hiperpolarización de las neuronas talamocorticales. Además, registros intracelulares de las neuronas reticulares han demostrado que estas neuronas se depolarizan y activan en forma de trenes de espigas de forma cíclica (7-14 Hz). Por lo tanto, esta activación reticular produce una hiperpolarización cíclica y una activación sincrónica de las neuronas talamocorticales, que es característica del SL (Steriade y Llinás y 1988).

SUEÑO MOR (SMOR)

Durante los últimos 30 años una gran cantidad de estudios en los que se han utilizado diferentes técnicas, han sugerido que el SMOR está regulado por estructuras que se encuentran en el tallo cerebral. Sin embargo, aún con todos estos trabajos hasta el momento no se ha podido definir exactamente cual es el o los mecanismos neurofisiológicos que lo regulan.

Las secciones a nivel de la unión pontomesencefálica (Jouvet, 1962) y de la unión bulbopontina (Siegel y col, 1984 y 1985) demostraron que el tallo cerebral es la única región del sistema nervioso central indispensable y suficiente para generar las características polisomnográficas del SMOR. Sin embargo, estos trabajos promovieron únicamente el estudio de las estructuras pontinas como parte fundamental en la regulación del SMOR.

Con esta línea de investigación se demostró que la estimulación eléctrica o farmacológica de varias estructuras pontinas induce SMOR. La estimulación con pulsos eléctricos en la formación reticular pontina (FRP), produce un aumento significativo del SMOR (Monti, 1970). Asimismo estudios recientes han demostrado que la microinyección de agonistas colinérgicos en el locus coeruleus alfa (LCA) y el peri-locus coeruleus (pLC) (Sakai, 1988), así como en la FRP (Baghdoyan y col, 1984) inducen la aparición de un estado parecido al SMOR. Este efecto es espacio (Baghdoyan y col, 1987; Yamamoto, 1990) y dosis dependiente (Baghdoyan y col, 1989).

Estos trabajos señalan al puente como la región cerebral que controla las características polisomnográficas del SMOR. Sin

embargo, el registro electrofisiológico de actividad unitaria ha permitido demostrar que durante el SMOR existe un aumento en la actividad neuronal de un gran número de estructuras, que no sólo se encuentran en el puente, sino que están distribuidas a lo largo del tallo cerebral (Vertes, 1984) (ver figura 5). Se ha observado un tipo de neuronas que presentan una activación fásica durante la vigilia con movimiento, que alcanzan su frecuencia mínima durante SL y que se activan al máximo durante el SMOR. Estas neuronas, denominadas "REM ON", se han registrado en la FRP (Hobson y McCarley, 1974), en el pLC y el LCa (Sakai, 1980 y 1988), en el núcleo parabraquial lateral (PB) (Saito y col, 1977), el núcleo magnocelular del bulbo (Mc) (Chase y col, 1981), en los PPT y LDTG (El Mansari y col, 1989; Steriade, 1989) y en el núcleo parvocelular (PCR) (Netick y col, 1977).

En contraste, el registro electrofisiológico de varios núcleos del sistema de rafe (McGinty y Harper, 1974; Sakai y col, 1983; Trulson y col, 1984) y del Locus Coeruleus (LC) (Hobson y col, 1974) ha demostrado que existe un tipo de neuronas, llamadas "REM OFF" que tienen una frecuencia de disparo alta durante la V, que disminuye gradualmente durante SL y no presentan actividad electrofisiológica durante el SMOR. Ya que estas estructuras emplean como neurotransmisor la serotonina (los núcleos del rafe) o la noradrenalina (LC), se ha sugerido que los sistemas monoaminérgicos del tallo cerebral tienen un papel permisivo en el SMOR (Hobson y col, 1986).

La utilización de lesiones electrolíticas, mecánicas o químicas ha demostrado que el mecanismo del SMOR es más complejo

de lo que se pensaba. Las lesiones del tallo cerebral demostraron que sólo la ablación extensiva de la transición pontomesencefálica suprime el SMOR. La lesión del LC, el PLC y el LCa con 6-Hidroxidopamina, neurotóxico del sistema catecolaminérgico, no impide la aparición del SMOR (Jones, 1977). Tampoco se modifica el SMOR con lesiones electrolíticas o con 5,7 triptamina del rafe dorsal (Froment y col, 1974). Además, la lesión con ácido kaínico de la FRP (Sastre y col, 1981; Drucker-Colín y col, 1983) y de los núcleos tegmento dorsolaterales (PPT, LDTG y PB) no abolen la aparición del SMOR, si bien en el último caso existe una correlación entre el tamaño de la lesión y la disminución producida en el SMOR (Webster y Jones, 1988).

En general, estos estudios sugieren que el SMOR está regulado por una gran cantidad de estructuras en el tallo cerebral, que como se observa en la figura 5 probablemente interactúan entre sí, hasta alcanzar un nivel crítico de excitabilidad, lo que permite aumentar su actividad neuronal y generar esta fase de sueño. Sin embargo, los estudios de lesiones sugieren que ninguna de estas estructuras es indispensable por sí sola para regular el SMOR, indicando que el mecanismo de interacción entre estructuras las involucradas en el SMOR es complejo.

Uno de los puntos más conflictivos en la investigación del SMOR ha sido la delimitación de las estructuras que participan activamente en la regulación del SMOR, de aquellas que sólo forman parte de los fenómenos colaterales asociados al SMOR. A continuación se revisará brevemente el mecanismo neurofisiológico que regula los diferentes patrones poligráficos del SMOR (ver

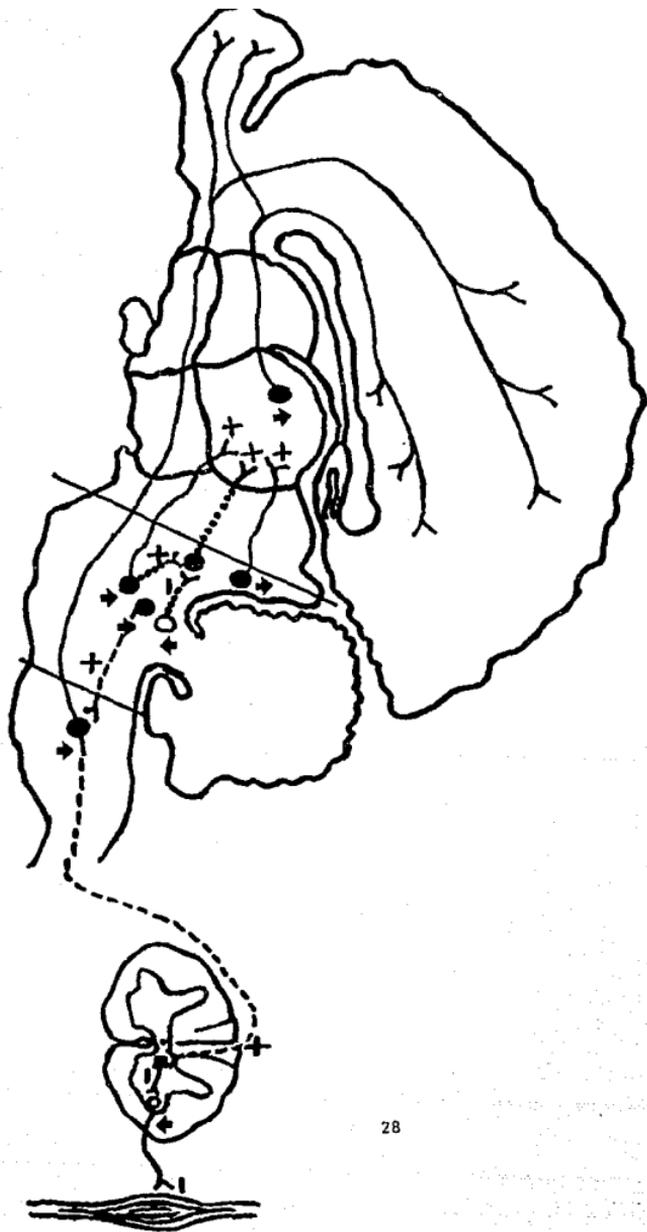


Figura 5.

Esquema del mecanismo que regula las diferentes variables polisomnográficas del Sueño MOR (SMOR). Las dos líneas transversales que separan al puente del resto del cerebro representan la preparación en la que se demostró que el puente es la región cerebral indispensable para la generación del SMOR. Las líneas continuas señalan el mecanismo de desincronización del EEG, en el cual, fibras mesencefálica (FRM), activan al tálamo y la corteza. Las líneas punteadas indican el mecanismo de atonía muscular, donde los núcleos pontinos enterodorsales mandan aferentes colinérgicas a la RFB, que a su vez, proyecta a las interneuronas del asta dorsal de la médula espinal. Estas interneuronas son glicinérgicas que hiperpolarizan a las motoneuronas, induciendo atonía. El mecanismo que regula las espigas PGO está representado por líneas. La región dorsolateral del puente (RDLP) y la formación reticular pontina proyectan al cuerpo geniculado lateral. Estas estructuras se activan poco antes de una espiga PGO y su estimulación induce la aparición de estas espigas. Durante la vigilia y el SL, la RDLP se encuentra inhibida (-) por núcleos pontinos que utilizan serotonina. Las estructuras que aumentan su actividad eléctrica selectivamente durante SMOR y que al ser estimuladas inducen SMOR están señaladas con flechas hacia arriba. Las estructuras que disminuyen su actividad se señalan con flechas hacia abajo.

- | | |
|--------------------------|------------------------------------|
| ● Soma Colinérgico. | ○ Soma Monoaminérgico |
| ■ Soma Glicinérgico. | ↑ Estructuras Activas |
| ↓ Estructuras Inhibidas. | — Mecanismo de Desincronización |
| Mecanismo PGO. | - - - Mecanismo de Atonía Muscular |

figura 5).

1. DESINCRONIZACION CORTICAL. El patrón electroencefalográfico de baja amplitud y alta frecuencia es una de las características más sobresalientes del SMOR en relación al SL. Si bien este patrón de EEG es muy parecido durante la vigilia, el mecanismo que regula la desincronización en estas dos fases no es exactamente el mismo. Se ha demostrado que existe un mecanismo de activación cortical más complejo durante la vigilia que a lo largo del SMOR.

A nivel de la formación reticular, durante el SMOR la ruta ascendente ventral que es monoaminérgica y que proyecta al hipotálamo, tálamo y a la corteza no se encuentra activa. Esta ruta se origina en los núcleos LC y RD y como ya se ha citado presentan células REM OFF (Hobson y col, 1974; McGinty y Harper, 1977). En cambio, se postula que los núcleos colinérgicos de la transición pontomesencefálica (PPT-LDTG) juegan un papel central en la desincronización del EEG durante el SMOR, ya que inducen la despolarización de las células talamocorticales y la inhibición del núcleo reticular talámico a lo largo de esta fase de sueño (El Mansari y col, 1989; Steriade, 1989). Adicionalmente, estudios de actividad unitaria y con trazadores de vías han indicado que el núcleo magnocelular del bulbo proyecta directamente a la corteza y se activa únicamente durante la desincronización del EEG durante el SMOR, sugiriéndose como la estructura activadora a nivel talamocortical exclusiva del SMOR (Steriade y col, 1984; Sakai, 1985).

La influencia activadora de las células histaminérgicas del hipotálamo posterior tampoco es importante durante el SMOR, ya que son células REM OFF (Sakai y col, 1990). Por último, las

células colinérgicas del cerebro basal (núcleo de Meynert y sustancia inominata) presentan una actividad semejante durante la vigilia y el SMOR, por lo que es probable que participen a nivel extratalámico en la activación del EEG a lo largo de estas dos fases (Symusiak y McGinty, 1989).

2. ACTIVIDAD THETA HIPOCAMPAL. El ritmo theta hipocampal es un patrón sinusoidal con una frecuencia de 5 a 10 Hz, que se observa durante SMOR, y en periodos de vigilia asociados a procesos de atención o con movimientos voluntarios (Buzsaki y col, 1983). Este ritmo se observa claramente en roedores, es menos evidente en el gato y excepcionalmente en primates (Winson, 1972).

La aparición del ritmo theta depende de la activación tónica del sistema septohipocampal, que sincroniza la actividad del hipocampo mediante depolarizaciones rítmicas de sus neuronas. Los estudios de estimulación y lesiones han demostrado que la región rostral de la formación reticular pontina es la zona más efectiva para inducir la actividad theta hipocampal (Vertes, 1982). Esta región presenta neuronas cuya actividad esta íntimamente ligada a la sincronización del sistema septohipocampal (Arnolds y col, 1975; Vertes, 1979). Asimismo, estudios recientes con trazadores de vías han indicado que la FRP oral manda proyecciones directas al hipocampo (Jones y Yang, 1985), corroborando la hipótesis de un sistema activador tónico del septum proveniente de la formación reticular.

3. ATONIA MUSCULAR. La pérdida del tono muscular es otra de las características tónicas del SMOR, que separan esta fase de las otras que conforman el ciclo vigilia-sueño. La descripción de la

atonía muscular que acompaña al SMOR fué hecha por primera vez por Jouvét (1959). Este autor y posteriormente Morrison y col. (1981), demostraron que la destrucción del tercio caudal del LC induce un fenómeno de SMOR sin atonía, donde los gatos presentan conductas alucinatorias de miedo y ataque a un enemigo imaginario.

Estudios recientes han indicado que el sistema "ordenador" de la atonía muscular se encuentra en los núcleos perilocus Coeruleus y Locus Coeruleus Alfa, que son estructuras situadas a nivel medial y ventromedial del LC, y cuya lesión con neurotóxicos induce MOR sin atonía (Sakai y col, 1980). Además como se observa en la figura 5, estas dos estructuras tienen células REM ON y mandan proyecciones colinérgicas excitatorias al núcleo Mc y el paramedial (PM) del bulbo, por medio del tracto tegmentoreticular lateral (Sakai y col, 1980). Las neuronas del Mc y el PM se consideran de relevo y envían, a su vez, proyecciones excitatorias a interneuronas glicinérgicas espinales, a través del tracto retículo espinal ventrolateral (Morales y col, 1990). Los estudios de la actividad intracelular han demostrado que las motoneuronas, el sistema eferente de la atonía muscular, se encuentran ligeramente hiperpolarizadas durante SL pero, es durante SMOR esta hiperpolarización se encuentra al máximo (Chase y col, 1981). Asimismo, se ha sugerido que la hiperpolarización de las motoneuronas es inducida a nivel postsináptico por las interneuronas glicinérgicas durante el SMOR (Soja y col, 1987).

Se ha demostrado que microinyecciones de agonistas colinérgicos en los núcleos perilocus, LC alfa y PM producen una

supresión generalizada de la actividad motora en gatos (Lai y Siegel, 1988). Este efecto puede ser provocado también por la aplicación de agonistas glutamatérgicos en el núcleo Mc (Lai y Siegel, 1990). Además, estudios con microdialisis han indicado que existe una liberación tónica de acetilcolina y de glutamina en los núcleos PM y el Mc respectivamente, sugiriendo que los mecanismos centrales que controlan la atonia muscular no son solamente colinérgicos, sino también glutamatérgicos (Kodama y col, 1992).

4. ESPIGAS PONTO-GENICULO-OCCIPITALES (PGOs). La actividad PGO fué registrada por primera vez en el puente por Jouvét y su grupo (1959). Posteriormente, las PGOS fueron registradas también en el cuerpo geniculado lateral (Mikiten y col, 1961) y en la corteza occipital (Mouret y col, 1963). Por esta razón las PGOS tienen ese nombre. Sin embargo, los potenciales de campo caracterizados como PGOs han sido registrados en estructuras como: el colículo superior (Brokks y Bizzi, 1963), en los núcleos de los nervios craneales III, VI y VII (Michael y col, 1964; Costin y Hafemann, 1970), en los núcleos pulvinar y central lateral del tálamo (Hobson, 1964), en la corteza parietal y temporal (Sakai y col, 1976) y en el sistema límbico (Calvo y col, 1984) (ver figura 6). Las PGOs pueden ser monofásicas, espigas dobles o trenes de espigas y se ha sugerido un sistema homeostático que mantiene una cuota diaria de 14 000 espigas, independientemente de la cantidad de SMOR (Jouvét y Moruzzi, 1972). Además las espigas PGO han sido registradas en el gato, el perro, la rata y en primates no humanos (Jouvét y col, 1959; Cespuglio y col, 1977; Kaufman,

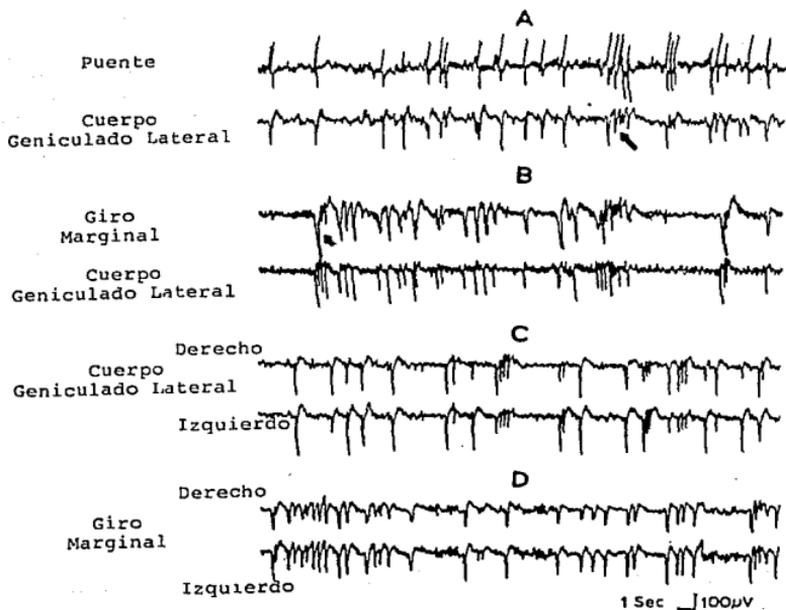


Fig. 6 . Presentación simultanea de las espigas PGO en distintas estructuras. Cada par de registros corresponde a periodos de sueño MOR en diferentes animales (tomado de Brooks, 1967).

1983; Feldman y Cohen, 1968).

Se ha demostrado la existencia de neuronas que se activan poco antes de una espiga PGO, denominadas células "PGO-ON" en la región dorsolateral de la transición puente-mesencéfalo (Sakai, 1980) y en la FRP (MacCarley y col, 1978). Dentro de las estructuras a nivel dorsolateral se encuentran el núcleo Parabrachial lateral, el núcleo laterodorsal tegmental y el área X, que en conjunto mandan proyecciones al cuerpo geniculado lateral y a la corteza occipital (Sakai, 1980). Asimismo, lesiones con neurotóxicos inducen la desaparición de la PGOs (Sakai y col, 1976). Adicionalmente se ha sugerido que el sistema regulador de las PGO es colinérgico, ya que microinyecciones de carbacol en el area parabraquial induce PGOs durante varias horas, independientemente del estado de conciencia del animal (Datta y col, 1991).

Se ha sugerido que las neuronas serotoninérgicas del rafe ejercen una influencia inhibitoria sobre el marcapaso colinérgico de la transición puente-mesencéfalo, y que la liberación de esta influencia durante SMOR permite la manifestación de espigas PGO a lo largo de esta fase. Esta hipótesis se basa en experimentos donde la lesión con 5,7 hidroxitriptamina del RD, o la interferencia de la transmisión serotoninérgica con reserpina o Paraclorofenilalanina (PCPA) (Jouvet y Moruzzi, 1972; Ursin, 1978) inducen, después de 3 semanas de administración constante, la ocurrencia continua de PGOs a lo largo de todo el ciclo vigilia-sueño. Asimismo, la inhibición por congelación del LC también induce la aparición continua de PGOs (Cespuglio y col,

1982).

Es importante resaltar que el estudio de la neurofisiología de las características poligráficas que definen al SMOR de forma aislada, no es necesariamente la estrategia más adecuada para poder comprender al SMOR como un fenómeno global. Como ya se ha mencionado, por medio de lesiones o transectos es posible inducir SMOR sin atonia (Jouvet, 1959), MOR sin PGOs (Sakai y col, 1976) o MOR sin desincronización cortical (Jouvet, 1972). Por lo tanto, es necesario diferenciar aquellas estructuras del tallo cerebral que participan en un solo fenómeno poligráfico del SMOR, de las estructuras que tienen un papel integrador en la regulación del SMOR.

PROCESAMIENTO SENSORIAL DURANTE EL SUEÑO

El sueño en cualquier especie animal se caracteriza por la ausencia de movimientos corporales dirigidos y por la pérdida de contacto con el ambiente que le rodea. Ya que existen modificaciones en el procesamiento sensorial durante el sueño, un animal dormido no reacciona a estímulos ante los cuales respondería si estuviera despierto.

El estudio de las características de los potenciales sensoriales provocados durante las diferentes fases del ciclo vigilia-sueño, han sido una herramienta para determinar los cambios en la reactividad de los sistemas sensoriales durante dichas fases. Los potenciales provocados son el resultado de la activación neuronal de campo, es decir de un gran número de neuronas, ante un estímulo específico. Este estímulo puede aplicarse y posteriormente registrarse en cualquier relevo de una vía sensorial, por lo que es posible obtener información del procesamiento sensorial en toda la vía o en puntos localizados (Hobson y Steriade, 1986).

En el caso de estudios con potenciales provocados por estimulación periférica, donde se determina la reactividad de toda la vía sensorial, se han observado resultados contradictorios: Winters y col., (1967), observaron que los potenciales auditivos de tallo presentan una respuesta mayor durante SL que durante la vigilia y el SMOR, en cambio, Evarts (1963) encontró respuestas iguales en las diferentes fases. Estos resultados ambiguos pueden deberse a la falta de control en los factores externos que modifican la estimulación periférica y a la inconsistencia en la localización

de regiones corticales.

Por otra parte, la estimulación del tracto óptico (Dagnino y col, 1965) o del cuerpo geniculado lateral (Frommer y Galambos, 1964) inducen un potencial en la corteza visual que tiene una amplitud menor en SL en relación a la vigilia y que presenta su máximo en SMOR. Además, trabajos en los que se estimula la corteza ha sugerido que la excitabilidad cortical durante las diferentes fases no se modifica (Walsh y Cordeau, 1965). En términos generales, los experimentos de potenciales evocados en relevos específicos de una vía sensorial, como son los obtenidos por estimulación pretalámica (Dagnino y col, 1965), talámica (Frommer y Galambos, 1964) y postalámica (Walsh y Cordeau, 1965) sugieren que la disminución de la reactividad a los estímulos ocurre a nivel de tálamo y sólo durante SL, en cambio durante el SMOR se presenta un aumento en la excitabilidad de las vías sensoriales específicas.

Actualmente, se piensa que el bloqueo de la transmisión sináptica en el tálamo previene la elaboración de una respuesta en la corteza, induciendo la deaferentación necesaria para la somnolencia y posteriormente para el sueño (Steriade, 1989b). Durante el SL disminuye la actividad espontánea y la probabilidad de respuesta ante un estímulo en las neuronas de los núcleos sensoriales talámicos y la corteza. Este fenómeno como ya se mencionó, se debe a la hiperpolarización de las neuronas talámicas que proyectan a la corteza, por la influencia de las neuronas del núcleo RT que utilizan GABA. Esta hiperpolarización induce una desinhibición de la corriente de Ca de bajo umbral, produciendo una ráfaga de espigas seguida de una larga

hiperpolarización, en las mismas neuronas talamocorticales (Steriade y Llinás, 1988).

Por otro lado, durante el SMOR el umbral para despertar es el más alto, por lo que es considerada la fase más profunda de sueño. La disminución en la reactividad a los estímulos durante el SMOR no puede explicarse a través de un aumento en la resistencia de las vías sensoriales clásicas, ya que éstas se encuentran con una alta excitabilidad durante el SMOR (Pompeiano, 1972), por lo tanto desde los años 60s, se ha sugerido que los cambios en la excitabilidad del sistema inespecífico son los responsables de la deaferentación sensorial del SMOR. Se ha encontrado que para inducir el despertar en gatos a través de la estimulación de la formación reticular mesencefálica, es necesaria una intensidad 500% mayor en SMOR que en SL (Benoit y Bloch, 1960). Además, se ha observado que la formación reticular, parte de la vía sensorial inespecífica, tiene un nivel de reactividad a estímulos sensoriales muy bajo durante SMOR (Huttenlocher, 1960). Basado en estos experimentos y en estudios de la actividad unitaria, Jouvett (Jouvett y Moruzzi, 1972) sugirió que el alto umbral para despertar durante el SMOR se debe a la elevada actividad espontánea de la formación reticular, lo que induce un bloqueo por oclusión del paso de la información sensorial.

Los cambios en la excitabilidad de los sistemas sensoriales (específico e inespecífico) durante el ciclo vigilia-sueño no impiden completamente la interacción del organismo con su medio. Ciertos estímulos son capaces de despertar a un individuo si son

lo suficientemente intensos o significativos. Varios estudios han demostrado que durante el SL y no en SMOR, existe un procesamiento de información exterior que puede inducir rápidamente el despertar, si el estímulo aplicado tiene relevancia para el individuo (Buendía y col, 1963; Langford y col, 1974).

Recientemente, se ha sugerido que, durante el SMOR, puede ser detectado y procesado un estímulo conductualmente significativo, sin que necesariamente se produzca un despertar. Esta hipótesis se basa en varias líneas de evidencia:

a) Se ha sugerido que el SMOR es una fase de consolidación de la memoria, donde la información previamente adquirida es reprocesada, ya que la privación de los periodos de SMOR subsiguientes al aprendizaje abolen la ejecución de la tarea (Fishbein y Gutwein, 1977). Además, se ha observado un aumento en la duración y la frecuencia de los periodos de SMOR que ocurren espontáneamente 2 ó 3 horas después del aprendizaje, por lo que han sido denominadas ventanas de SMOR (Smith, 1985; Hennevin y Leconte, 1977).

b) Es posible que el procesamiento que se lleva a cabo durante las ventanas de SMOR postaprendizaje sea similar al que se presenta justo después de la adquisición de la información (Bloch y col, 1977). Esta hipótesis se basa en los trabajos donde se observa que la estimulación de la formación reticular mesencefálica, aplicada durante el periodo de postadquisición, parece substituir a las ventanas de SMOR, ya que impide el aumento del SMOR postentrenamiento y abole los efectos negativos en la ejecución al privar de SMOR a los animales (Bloch y col,

1977).

c) Se ha sugerido que durante el SMOR un estímulo externo puede ser procesado e inducir modificaciones en la consolidación y retención de la memoria, cuando éste tiene un "valor" conductual en la vigilia. La retención de una tarea se incrementa cuando, durante la ventana de SMOR postaprendizaje, se aplica el estímulo utilizado como condicionado en una prueba de condicionamiento clásico (Hars y col., 1985). Este efecto no se observa si el estímulo condicionado es aplicado durante SL (Hars y col, 1987).

EFFECTOS DE LA ESTIMULACION SENSORIAL SOBRE EL SUEÑO

Como hemos revisado, la entrada y procesamiento sensorial es diferente en cada fase del ciclo vigilia-sueño. Resulta interesante observar, que de manera inversa, la estimulación sensorial puede modular la cantidad y calidad de las diferentes fases de sueño.

Pavlov fue el primer investigador que observó que un estímulo condicionado puede transformarse en uno inhibitorio, cuando éste se repite frecuentemente y durante mucho tiempo, sin la administración de un refuerzo. Durante este proceso, que fue denominado inhibición interna, siempre se presentaba somnolencia y sueño en los animales. Fue por esto que Pavlov sugirió de la inhibición interna y el sueño formaban parte de un mecanismo común (Pavlov 1923, citado por Jouvett y Moruzzi, 1972).

Varias décadas después, Roitback (1960) observó que la estimulación eléctrica de la piel induce somnolencia y

sincronización electroencefalográfica en perros y gatos. Posteriormente, se demostró que el efecto encontrado por Roitback se inducía por la estimulación del grupo II de fibras cutáneas, y no por la estimulación de aferentes musculares (Pompeiano y Swet, 1962). A su vez, la activación de estas fibras cutáneas inducen un aumento en la frecuencia de disparo de las neuronas de la formación reticular bulbar y pontina (Pompeiano y Swet., 1962).

Varios estudios han indicado que no sólo los estímulos somáticos pueden modular el SL. La estimulación visual por destellos luminosos constantes produce signos conductuales de sueño, así como sincronización electroencefalográfica en el gato (Mancia y col., 1959) y en el humano (Gastaud y col., 1961). Además, la estimulación de aferentes parasimpáticas a nivel vagal (Bonvallet y Sigg, 1958) o del núcleo de tracto solitario (Magnes y col., 1961) inducen las características polisomnográficas del SL.

Por otro lado, el SMOR también puede ser modulado por diferentes tipos de estimulación sensorial. En gatos pontinos, la estimulación eléctrica del nervio vagoaórtico es capaz de provocar un aumento tanto en la frecuencia como en la duración del SMOR dependiendo del paradigma de estimulación. Cuando la estimulación se aplicó con intervalos fijos de 1 hora si y 1 hora no el aumento fue en la frecuencia del SMOR, en cambio cuando el estímulo vagal se aplicó durante los periodos de SMOR, la duración de esta fase fue incrementada (Puizzillout y col., 1976). De manera interesante, el tiempo total de SMOR no se modificó.

La estimulación vestibular, inducida por el balanceo de

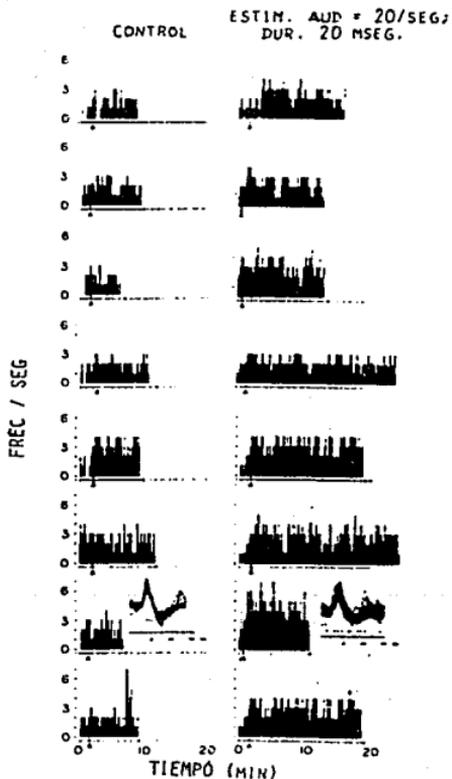


Fig. 7 . Histogramas de frecuencia de espigas PGO durante 8 períodos de sueño MOR con estimulación auditiva y 8 períodos sin estimular. Cada barra representa el número de espigas PGO por segundo. El triángulo indica la iniciación del MOR. Obsérvese el incremento en la densidad de PGOs y el evidente aumento en la duración del sueño MOR. (Tomado de Drucker-Colín y cols., 1983).

gatos neonatos durante la sesión de registro, provoca un incremento en el porcentaje del SMOR (McGinty, 1985). Asimismo, se ha demostrado que la aplicación de un estímulo vibratorio (100 Hz) o de ruido blando (75 dB) en gatos, durante 15 min antes de empezar el registro polisomnográfico induce un incremento en el tiempo total de SMOR o en la duración de SL, respectivamente (Doneshka, 1974).

En nuestro laboratorio hemos estado interesados en los efectos de la estimulación sensorial sobre el mecanismo de generación y mantenimiento del SMOR. En 1983 Drucker-Colín y col. encontraron que la aplicación de estímulos auditivos (90 dB, 2 Khz, 20 ms) cada 20 s a lo largo de los periodos de SMOR, induce un aumento en la duración de esta fase, así como un incremento en la densidad de espigas PGO en el gato (ver figura 7). Posteriormente se observó este efecto en humanos (Mouze-Amady y col, 1986; Salín-Pascual y col, 1990). Además, se demostró que la estimulación somática (estimulación eléctrica en la piel) también es capaz de inducir un incremento significativo en el SMOR y la densidad de espigas PGO (Arankowsky-Sandoval y col, 1987). Anteriormente, Bowker y Morrison (1976) habían observado que un estímulo auditivo o táctil puede inducir una espiga PGO en cualquier fase del ciclo vigilia-sueño, por lo que se ha propuesto que las espigas PGO sean un mecanismo de alerta en respuesta a estímulos internos o externos durante el SMOR (ver figura 8).

Ya que la estimulación auditiva o somática induce un aumento tanto en la duración del SMOR como en la densidad de espigas PGO, se sugirió que la actividad PGO formaba parte del mecanismo de

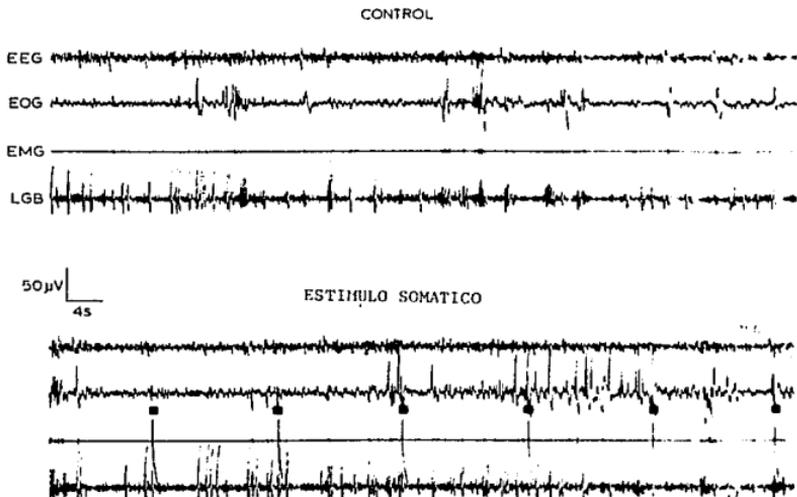


Fig. 9. Características electropolisomnográficas de registros de sueño MOR, en los que se observa que el estímulo somático (ilustrado con cuadros oscuros, en el registro inferior) induce un incremento evidente en la densidad de espigas PGO. También se observa que el estímulo produce un artefacto en el EMG, sin que cambie la actividad muscular. (Tomado de Arankowsky-Sandoval y cols., 1988).

mantenimiento del SMOR, produciendo periodos de SMOR más largos cuando se aumentaba la excitabilidad del sistema con la estimulación sensorial. Para comprobar esta hipótesis se diseñó un experimento farmacológico, en el cual se utilizó atropina, un antagonista colinérgico. La atropina tiene la propiedad de disminuir la duración del SMOR como la densidad de espigas PGO, pero de manera diferencial, es decir, con una dosis de 0.1 mg/kg se observó una reducción del 29% en el SMOR y un decremento de 30 % en la densidad espigas PGO; sin embargo, con una dosis de 0.3 mg/kg el decremento en el SMOR alcanzó el 58 % y en cambio, no se indujo una disminución mayor en la densidad de espigas PGO (Arankowsky-Sandoval y col, 1986).

En la segunda parte de este experimento, se utilizaron animales a los que se les administró 0.2 ó 0.3 mg/kg de atropina, para probar el efecto de la estimulación auditiva. Estas dosis de atropina son las que inducen los efectos disociativos entre la duración del SMOR y la densidad de espigas PGO. De forma inesperada, la estimulación auditiva aplicada a lo largo del SMOR revirtió la disminución en el SMOR inducido por atropina, sin embargo, la densidad de espigas PGO no se alteró. Estos resultados sugieren que el efecto de la estimulación auditiva sobre el SMOR es independiente de la densidad de espigas PGO y del bloqueo colinérgico, refutando la hipótesis que proponía a la actividad PGO como un elemento regulador del mantenimiento del SMOR (Dement, 1969). Es probable que este aumento en la densidad de espigas PGO se relacione más bien con otros dos fenómenos: la activación directa del cuerpo geniculado lateral por la estimulación sensorial (Chalupa y col,

1975), o la generación de la respuesta de sobresalto inducida por la estimulación sensorial, con la cual las espigas PGO están estrechamente relacionadas (Wu y Siegel, 1990).

Como se ha podido observar, la estimulación sensorial durante el SMOR, es una herramienta no invasiva que permite incrementar el SMOR de manera fisiológica. Recientemente, se ha demostrado que el efecto de la estimulación auditiva se mantiene durante 4 días seguidos, cuando se estimula a lo largo de cada periodo de SMOR observado, en 8 horas de registro al día (Merchant-Nancy, 1990). Además, la estimulación auditiva no produce cambios en la cantidad diaria de vigilia y sueño lento, pero induce una disminución en los periodos de SMOR abortivos (periodos menores de 2 min). Finalmente, la estimulación auditiva durante SMOR en el gato no produce cambios en el ciclo vigilia-sueño posteriores a la sesión de estimulación, aún cuando esta sesión sea de 24 horas consecutivas (Drucker-Colín y col, 1990).

La estimulación sensorial durante el SMOR puede ser un tratamiento efectivo en el restablecimiento de la cuota total de sueño en ancianos. Un estudio previo ha indicado que las ratas viejas (22 meses) a las cuales se les aplica consecutivamente 15 min una serie de estímulos auditivos (80 dB, 1 kHz, cada 20 s), con intervalos de 10 min sin la aplicación de estímulos, a lo largo del ciclo vigilia-sueño, muestran un aumento en la frecuencia de SMOR que restablece la cuota diaria de SMOR, en relación a ratas jóvenes (Arankowsky-Sandoval y col, 1992).

Por otro lado, en nuestro laboratorio hemos tratado de determinar las estructuras que están involucradas en el mecanismo

de SMOR y su interacción con la estimulación sensorial. Las lesiones con ácido kaínico en la formación reticular pontina no producen un decremento en el SMOR (Drucker-Colin y col, 1983). Sin embargo en gatos con una pérdida del 60 % de las células gigantes de esta estructura, el estímulo auditivo no induce un aumento en el SMOR, aun cuando se sigue observando el incremento en la densidad de espigas PGO (Arankowsky-Sandoval, 1989). Además como se observa en la figura 9, el registro de la actividad unitaria de las células de la FRP, mostró que la estimulación auditiva a lo largo del SMOR, induce un aumento en la actividad del 44% de las neuronas estudiadas (Drucker-Colin y col, 1990).

Los estudios de estimulación eléctrica y colinérgica, así como de actividad unitaria, han sugerido a la FRP como una de las estructuras más vinculadas con el mecanismo del SMOR. Además, esta estructura junto con la formación reticular bulbar y mesencefálica reciben colaterales de las vías sensoriales específicas (Siegel, 1979; Wu y col, 1988; Groves y col, 1973), por lo tanto, la FRP es probablemente la estructura que está mediando los efectos de la estimulación auditiva sobre el SMOR. Sin embargo como se ha revisado en ésta tesis, una gran cantidad de estudios sugieren que no sólo la FRP está involucrada en la generación del SMOR, sino que existen varias estructuras distribuidas a lo largo del tallo cerebral que participan en la regulación de este fenómeno, y que posiblemente aumenten su nivel de actividad durante la estimulación sensorial.

En términos generales el SMOR es un proceso complejo y multifactorial donde participan varios circuitos neuronales, por lo tanto, para poder entenderlo de manera integral es necesario

SIN ESTIMULACION AUDITIVA

CON ESTIMULACION AUDITIVA

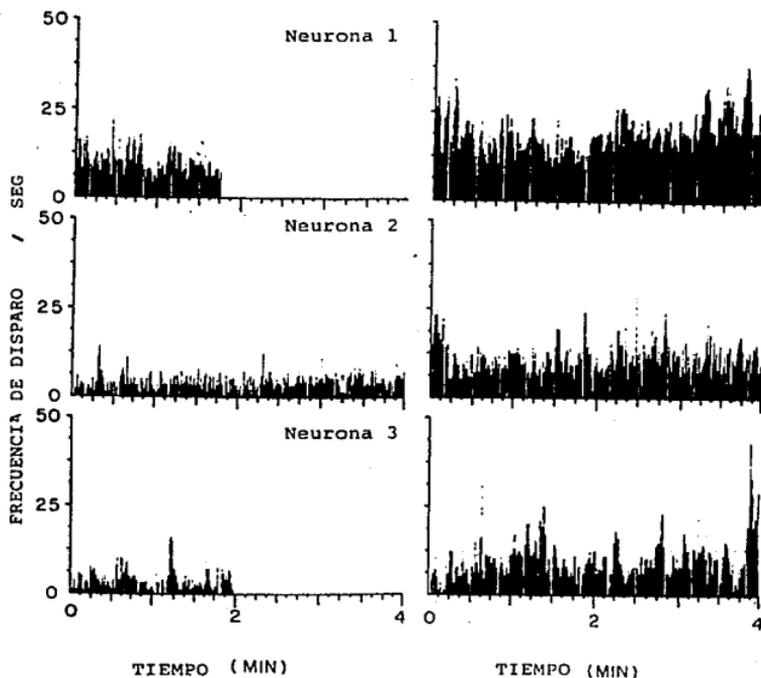


Figura 9. Registro de la actividad unitaria de neuronas del campo tegmental gigantocelular (FTG). La frecuencia de disparo de las 3 células aumenta con el estímulo auditivo durante el SMOR.

(Tomado de Drucker-Colín y cols., 1989).

utilizar nuevas estrategias. Una de estas estrategias es incrementar la duración del SMOR para "resaltar" las características neurofisiológicas de esta fase. Con este objeto, en el laboratorio del Dr. Drucker-Colín se ha utilizado la estimulación auditiva y la privación selectiva de SMOR y su posterior recuperación, como herramientas no invasivas que inducen un aumento significativo en el SMOR, de manera sencilla y fisiológica. A continuación se revisará el efecto de la privación de SMOR y su proceso de recuperación en animales.

REBOTE DE SUEÑO MOR POSTERIOR A LA PRIVACION DE SUEÑO

En varios grupos de investigación, una de las herramientas utilizadas para tratar de entender el sueño ha sido su privación, es decir, el mantener despierto a un individuo durante largos periodos y determinar que efectos tiene este procedimiento sobre el organismo. De esta forma, se ha observado que la privación total de sueño produce un déficit general que se manifiesta principalmente por:

- 1) La dificultad de sostener la atención de forma continua.
- 2) La aparición de lapsos o microsueños durante la vigilia.
- 3) El ritmo alfa desaparece y aumentan las ondas lentas cerebrales durante la vigilia (Naito y col, 1971).
- 4) Deterioro de los mecanismos de producción energética y de las respuestas vegetativas ante el estrés.
- 5) Aumento en el consumo de alimento y disminución de peso corporal.

Todos los cambios mencionados son reversibles, desaparecen después de las primeras horas de sueño.

Dada la naturaleza tan diferente entre el SL y el SMOR, no sólo se han desarrollado experimentos de privación total de sueño sino también de privación selectiva, con el fin de determinar si la ausencia de cada una de estas fases afecta de diferente manera al organismo.

Se han desarrollado varias técnicas para la privación selectiva de SMOR en animales. La más utilizada es el método del tanque, en el cual se coloca a los animales en plataformas pequeñas, del tamaño suficiente para que se puedan mantener con

una relajación parcial, pero que no les permita una relajación total. Esto ocasiona que cada vez que aparece la atonia muscular característica del SMOR los animales caen y se despiertan. Además, el agua que rodea a la plataforma los obliga a subir de nuevo en ésta. Este método es económico y facilita la privación de varios animales simultáneamente, permitiéndoles dormir SL sin necesidad de la observación continua ni del registro polisomnográfico (Jouvet y col, 1964). Sin embargo, el método del tanque tiene ciertas desventajas: no es tan selectivo, es decir, reduce en un 10 al 40 % el SL (Mark y col, 1969) e induce estrés por el confinamiento.

Para controlar los efectos del estrés se han utilizado plataformas más grandes, de tal suerte que le permite a los animales una relajación total pero en condiciones de confinamiento. Si bien este control refleja los efectos estresantes del procedimiento, ya que las concentraciones de corticoides en plasma, el peso de las glándulas suprarrenales y los patrones de defecación son los mismos entre el control y el experimental, es importante aclarar que la plataforma grande induce una privación del 50% en el SMOR (Jouvet y col, 1964).

Recientemente se han desarrollado técnicas de privación selectiva de SMOR menos estresantes. Entre éstas se encuentra la técnica de multiplataformas, en la que el animal puede desplazarse evitando los efectos del confinamiento y la inmovilidad (Van Hulzen y Coenen, 1981). Otra técnica es la del péndulo, donde los animales son colocados en una plataforma móvil en la que la posición de imbalance induce la privación del SMOR (Van Hulzen, y Coenen, 1980). Estos dos sistemas de

privación muestran una disminución, con respecto al método del tanque, en el estrés medido con los índices clásicos de Selye: úlceras estomacales, atrofia del timo y las suprarrenales, y pérdida de peso corporal (Coenen y Van Luijtelaar, 1985). Es importante aclarar, que algunos autores han demostrado que el estrés per se puede aumentar significativamente el SMOR (Nasset y col, 1991).

La privación de SMOR produce una serie de cambios en el organismo como son un aumento en la ingestión de alimentos y líquidos (Jouvet y col, 1964), aumento en la actividad motora, (Vogel, 1975), exageración de la conducta sexual (Dement, 1965), disminución en la capacidad de aprendizaje (Smith, 1985) y aumento en la agresividad (Morden y col, 1968).

Por otro lado, después de la privación se presenta un periodo de recuperación del SMOR, denominado rebote de sueño. Después de la privación selectiva de SMOR, los animales ocupan cierto tiempo para lavarse y luego se duermen. El rebote de SMOR se caracteriza por un acortamiento en la latencia al SMOR. Asimismo, los periodos de SMOR que corresponden al rebote son difíciles de interrumpir, presentan un aumento en la densidad de movimientos oculares rápidos y de espigas PGO, así como mioclonias muy intensas (Dement, 1969). Adicionalmente el tiempo total de SMOR, la duración media y la frecuencia de los periodos de SMOR aumenta significativamente durante el rebote. Este aumento es proporcional al tiempo de privación hasta las 72 horas, punto en el que el SMOR alcanza un aumento límite del 60%. A partir de entonces, aunque aumente el tiempo de privación, ya

no aumenta la compensación (Siegel y Gordon, 1965) (ver fig 10).

Se ha sugerido que la privación de SMOR induce un aumento en general en la excitabilidad cerebral, que a su vez produce el incremento del SMOR durante el rebote. Esta hipótesis se fundamenta en los estudios donde se indica que la privación de SMOR induce por un lado, la disminución del umbral necesario para provocar crisis convulsivas por electrochoques y por otro, el aumento en la duración de la fase tónica de la convulsión (Cohen y Dement, 1970). Además, se ha demostrado que la privación de SMOR induce un aumento en la excitabilidad cortical, ya que la amplitud de los potenciales provocados en la corteza prepiriforme por estímulos periféricos aumentan en un 300% después de la 72 horas de privación (Satinoff y col, 1971). Por último, dentro de este contexto se ha observado una disminución en la latencia de los potenciales provocados auditivos (Dewson y col, 1967).

Recientemente, se ha determinado una disminución progresiva en la frecuencia de disparo en las células REM OFF del LC conforme avanza el tiempo de privación de SMOR (Mallick y col, 1991). Además, el registro unitario de neuronas de los núcleos dorsolaterales de la transición pontomesencefálica (PPT y LDTG) muestra que, en gatos privados de SMOR existe un aumento en la frecuencia de disparo durante el periodo de privación y a lo largo del rebote de sueño (Mallick y col, 1989, 1992). Asimismo, la actividad de la enzima acetilcolinesterasa en el bulbo, aumenta de manera proporcional al tiempo de privación de SMOR (Mallick y Takkar, 1990, Takkar y Mallick, 1991). Con base en estos resultados, se ha sugerido que la privación de SMOR induce cambios en la excitabilidad de dos sistemas cuyo papel en la

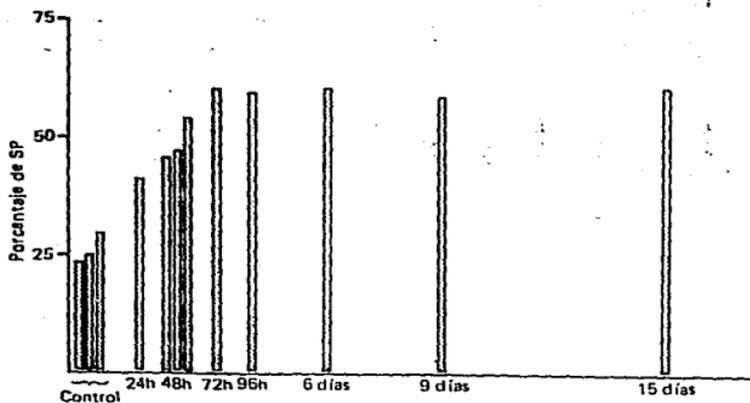


Figura 10. Porcentaje de sueño paradójico (SP) o MOR en el gato durante el rebote de sueño después de diferentes horas a días de privación de SP (abscisa) (Tomado de Jouvet y col., 1964).

regulación de SMOR ha sido demostrada: el sistema "permisivo" monoaminérgico y el sistema activador colinérgico (Hobson y col, 1986; Siegel, 1988); de tal forma que, durante la privación de SMOR estos dos sistemas tienen un tipo de actividad semejante al que muestran durante el SMOR, lo cual a su vez, probablemente esté produciendo el rebote de SMOR. Sin embargo, esta hipótesis sólo contempla la actividad de dos núcleos en la regulación del SMOR y del rebote de esta fase por privación, lo cual es un enfoque muy limitado. Además, es necesario determinar como el aumento general de la excitabilidad cerebral, relacionado con la privación de SMOR, puede repercutir en la interacción y activación de las estructuras involucradas en el mecanismo de SMOR durante el rebote de sueño.

Por otro lado, la teoría de los factores inductores de sueño es una hipótesis alternativa que ha tratado de explicar el rebote de sueño, desde un punto de vista humoral. Según esta teoría, durante la vigilia se acumulan una serie de sustancias hipnogénicas, tanto en el líquido cefalorraquídeo (LCR) como en el plasma, que al llegar a cierta concentración inducen sueño. La privación de sueño induce un aumento mayor en la concentración de estas hipnotoxinas, de tal suerte, que cuando al individuo se le permite dormir su efecto es mayor y se incrementa el sueño (Borbély y Tobler, 1989). Diferentes grupos de investigación han demostrado que diversas sustancias, la mayoría de origen peptídico, como són el Factor S (Pappenheimer y col, 1975), la uridina (Komoda y col, 1983), el factor inductor de sueño delta (Monnier y col, 1973) y la sustancia promotora de sueño (Nagasaki y col, 1974), se acumulan en el LCR o el plasma durante la

privación total de sueño y tienen la capacidad de aumentar el SL en animales normales. Sin embargo, la mayoría de estas sustancias producen un aumento en la temperatura cerebral, por lo que sus efectos sobre el sueño probablemente sean inespecíficos.

En los últimos años se ha determinado que el polipéptido vasoactivo intestinal (VIP), la colecistoquinina (CCK) y el péptido semejante a la corticotropina (CLIP) (Chastrette y col, 1988) tienen propiedades inductoras de SMOR (Riou y col, 1982; Drucker-Colín y col, 1984; Prospero-García y col, 1987). Además, el aumento del SMOR producido por estos péptidos es independiente de la temperatura cerebral (Obal y col, 1986). De manera interesante la incubación del LCR de animales privados de sueño con anticuerpos antiVIP abole el efecto del LCR que normalmente, al ser inyectado en animales insomnes, induce un aumento del SMOR (Drucker-Colín y col, 1990). Asimismo, el radioinmunoensayo para VIP en el LCR de animales privados de sueño indica un aumento de VIP proporcional al tiempo de privación (Jimenez-Anguiano y col, 1992). Estos experimentos sugieren que el VIP es un factor inductor de SMOR, que se acumula en el LCR y posiblemente esté mediando el aumento en el SMOR durante el rebote. Sin embargo, como se ha podido observar, estos trabajos no contestan la pregunta de cómo los factores inductores de sueño interactúan con el mecanismo de SMOR para inducir el rebote.

Aun cuando el mecanismo neurofisiológico que regula el rebote de sueño no ha sido dilucidado, la privación de SMOR y su posterior compensación han sido una de las herramientas más utilizadas en el estudio de la neurobiología del SMOR.

EXPRESION DEL PROTO-ONCOGEN c-fos COMO MARCADOR DE ACTIVIDAD
METABOLICA NEURONAL.

Las células nerviosas se caracterizan por tener la capacidad de recibir, transmitir y acumular información a través de señales eléctricas y/o químicas. Desde hace tiempo, se ha observado que la activación de receptores a nivel sináptico induce respuestas a corto, mediano y largo plazo. De tal forma que las respuestas rápidas, mediadas por receptores ligados a canal, inducen cambios eléctricos a nivel membranal cuya duración es de milisegundos. Las respuestas a mediano plazo se dan a través de segundos mensajeros, con un efecto cuya duración es de segundos a minutos y sin la necesidad de síntesis de novo de proteínas. Por último, se sugiere que las respuestas a largo plazo, son reguladas por un mecanismo de transducción que acopla vías de segundos mensajeros con la transcripción genómica. De esta forma, se regula la síntesis de novo de proteínas, que pueden jugar un papel importante en el desarrollo y plasticidad del sistema nervioso (Para revisión ver siegel y col, 1986).

En los últimos años, se ha observado que diferentes vías de segundos mensajeros inducen una rápida expresión de diversos proto-oncogenes, como son el c-fos y c-jun (Sheng y col, 1988 y 1990). Se ha sugerido que estos proto-oncogenes codifican nucleoproteínas que regulan la expresión de otros genes y por lo tanto, regulan las respuestas neuronales a largo plazo. Por este motivo como se observa en la figura 11, se han denominado terceros mensajeros (Morgan y Curran, 1989).

Los proto-oncogenes c-fos y c-jun son la contraparte celular de los oncogenes v-fos y v-jun (Curran y Teich, 1982; Maky y

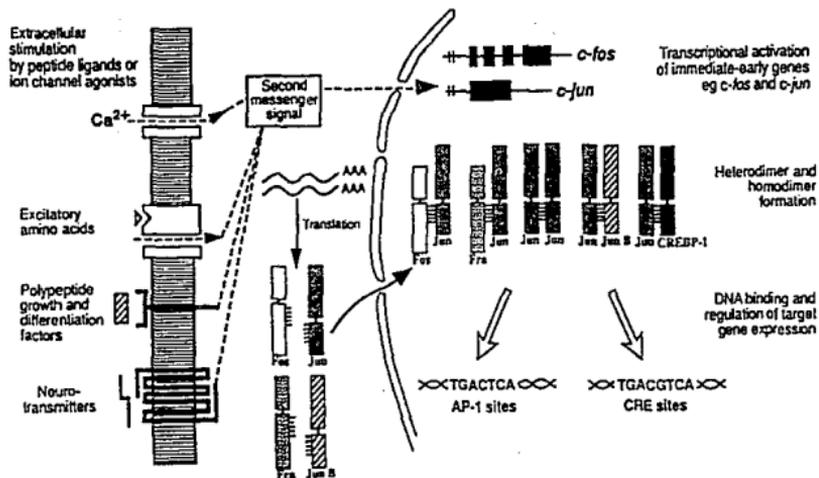


Figura 11. Papel del fos y el jun y genes relacionados en la transducción de señales. Varias señales extracelulares pueden inducir la rápida transducción de estos "immediate early genes". Las proteínas codificadas (Fos y Jun respectivamente) son sintetizadas y translocadas al núcleo, donde forman dímeros. Estos dímeros protéicos se pegan a secuencias controladoras transcripcionales (AP-1 ó CRE) que regulan la transcripción de otros genes. (Tomada de Curran, 1991).

col., 1987). Estos proto-oncogenes presentan un control muy estricto en su expresión, que es regulada por un mecanismo que tiene las siguientes características: a) Se activa rápidamente por estímulos fisiológicos: entrada de Ca por canales voltaje dependientes o por activación de receptores postsinápticos ligados a cascadas de segundos mensajeros (Morgan y Curran, 1986; Greenberg y col, 1986), b) Es independiente de la síntesis de proteínas (Lau y Nathans, 1987), c) La vida media de sus RNAm es corta (Muller y col., 1984) y d) Presenta un proceso de autorepresión (Franza y col, 1988).

Los estudios citados, hechos en modelos in vitro, han permitido sugerir cuáles son los mecanismos bioquímicos y moleculares que inducen una rápida expresión del c-fos (ver figura 11). Adicionalmente experimentos in vivo en el sistema nervioso, con inmunocitoquímica e hibridización in situ, han demostrado que el c-fos se expresa rápidamente, por diversas clases de estímulos y en varias estructuras. Dentro de este contexto, se han realizado estudios en epilepsia (Morgan y Curran, 1987 y 1989), potenciación a largo plazo (Cole y col, 1989), y de respuesta a lesiones cerebrales (Dragunow y Robertson, 1988), tratándo de aclarar el papel del c-fos y el c-jun, en la regulación de respuestas a largo plazo in vivo (Morgan y Curran, 1991). Sin embargo, los fenómenos de plasticidad y adaptación en el sistema nervioso son muy complicados y es difícil proponer hasta ahora, qué papel real juegan los proto-oncogenes es estos procesos.

La expresión de c-fos en el SNC, no sólo ha sido enfocada como un problema en la regulación de señales a largo plazo, sino

también como una herramienta que permite construir mapas de la activación neuronal durante procesos fisiológicos. Recientemente se ha utilizado la inmunohistoquímica para la proteína que codifica el proto-oncogen c-fos (Fos), como una técnica que permite hacer mapeos extensivos de la activación de cascadas de segundos mensajeros a nivel postsináptico, con la gran ventaja de tener resolución celular. Además, esta técnica permite la identificación de las neuronas que expresan c-fos, así como su localización y los neurotransmisores que utilizan, cuando se combina para obtener dobles inmunomarcajes (Morgan y Curran, 1991). Otra de las características sobresalientes de la inmunohistoquímica para Fos (IF) es su alta correlación con el aumento en la utilización de glucosa medida a través de la autoradiografía con 2-Desoxiglucosa. Sin embargo existen ciertas excepciones: se ha demostrado que la privar de agua en ratas induce un aumento en la IF en el núcleo paraventricular hipotalámico, pero no produce cambios en la utilización de glucosa medida con 2-DG (Sagar y col., 1988).

Estudios en los que se ha utilizado la IF han demostrado que esta técnica es extremadamente útil, ya que en algunos de estos trabajos, se observó que se podían marcar estructuras cuyo papel en la regulación de los fenómenos neurofisiológicos de interés se desconocía. Ejemplos de estos estudios son los experimentos en los que se observó el efecto de opiáceos y su recambio en el SNC (Hayward y col, 1990), y las microinyecciones de NGF en la corteza cerebral (Sharp y col, 1989). Dentro de este contexto, la inducción de IF por estimulación luminosa en la retina (Sagar y

Sharp, 1990) o en el núcleo supraquiasmático (Aronin y col, 1990) así como la expresión circádica de Fos en el hipocampo y la corteza, son ejemplos de la utilidad de la IF en la comprensión de fenómenos como la sincronización de los mecanismos circádicos con el medio. Es importante aclarar que la expresión de c-fos está ligada generalmente a la activación neuronal, sin embargo, la glía puede expresar c-fos después de transectos o lesiones cerebrales (Dragunow y Robertson, 1988).

Como todas las técnicas la IF presenta ciertos inconvenientes, como son: 1) el Fos existe basalmente en neuronas, por lo que es posible que se "enmascaren" los cambios relacionados con la activación de vías específicas (Sagar y col, 1988); 2) se ha observado que los niveles de expresión de c-fos pueden elevarse de manera inespecífica por el estrés inducido por las manipulaciones experimentales (Dragunow y Faull, 1989); 3) se ha demostrado que existen neuronas que no tienen capacidad de expresar c-fos, aún cuando hayan sido activadas por diferentes métodos (Sharp y col, 1989).

En esta tesis he repetido varias veces que el mecanismo de generación y mantenimiento del SMOR parece depender del aumento en la actividad de varias estructuras del tallo cerebral, que interactúan entre sí para alcanzar un nivel crítico de excitabilidad. Paradójicamente esta hipótesis es relativamente reciente (80s y 90s), debido a que la investigación del sueño siempre ha sido localizacionista. La búsqueda del "centro" generador del SMOR ocasionó la pérdida de mucho tiempo y trabajo, por lo que la investigación de los procesos de interacción entre las estructuras vinculadas con el SMOR apenas ha comenzado.

El uso de técnicas como la IF, que permiten el muestreo de estructuras que se activan simultáneamente en relación a un proceso fisiológico, es una de las necesidades prioritarias en el estudio del SMOR, ya que describirán de manera global los cambios en la actividad de todo el tallo cerebral.

OBJETIVO

Con base en estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo es determinar el número y distribución de las células inmunoreactivas a Fos en el tallo cerebral, en animales que presentaron periodos de SMOR control y en aquellos que mostraron un aumento en la duración del SMOR, ya sea por estimulación auditiva o por privación de sueño.

ARTICULO ANEXO

c-fos proto-oncogene changes in relation to REM sleep duration

Hugo Merchant-Nancy, Jacqueline Vázquez, Raúl Aguilar-Roblero and René Drucker-Colín

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

(Accepted 29 January 1992)

Key words: REM sleep; Brainstem; c-fos proto-oncogene; Auditory stimulation

Auditory stimulation has been shown to increase REM sleep periods in cats and humans. This effect has been attributed to an elevation of the level of excitability in a variety of brain stem neuronal groups. Fos-like immunostaining (FLI) has been useful in constructing maps of post-synaptic neuronal activity with single cell resolution, and has been suggested to be tightly correlated with ongoing neuronal activity. This study used FLI to quantify neurons from structures expressing c-fos in brain stem areas in animals with normal REMs and compared them with those showing extended REM periods. The results basically indicated that brain stem areas which in other studies have been described as having REM-ON cells, showed an increase in FLI, while no FLI changes occurred in areas described as having REM-OFF cells. These results are discussed in terms of the possibility that REM maintenance is related to a widespread increase in brain stem excitability.

Different manipulations such as sleep deprivation⁴ or chemical stimulation^{3,4} have been shown to increase REM sleep. Recently it has been reported that auditory stimulation (AS) initiated at the beginning and continued throughout a REM sleep period produces a very significant enhancement of each REM sleep period in both cats⁹ and human subjects^{19,28}. Animal work has shown that this increment is not affected by cholinergic blockade and is unrelated to the increase in PGO spike density which occurs in conjunction with the REM increase². On the other hand, kainic acid lesions of pontine reticular formation (PRF) cells, though not preventing the appearance of REM sleep, does prevent the duration increase induced by AS¹. Finally, the REM sleep increase induced by AS is accompanied by an increase in single unit activity frequency of PRF cells⁸. This latter observation suggests that prolongation of REM sleep by AS induces augmentation of excitability of certain neuronal groups, and that this may be causally related to the maintenance of longer REM sleep periods. Moreover, since recent evidence suggests that REM sleep is generated by a broadly distributed neuronal network throughout the brain stem, rather than by a particular structure^{26,29,32,35}, it seemed appropriate to study Fos-like immunostaining (FLI) which has been useful in constructing maps of post-synaptic neuronal activity with single cell resolution¹⁸. Moreover, it has been suggested that c-fos proto-oncogene expression is tightly correlated with ongoing neuronal activity, although there are some exceptions^{6,18,23}. In the present study, there-

fore, we utilized FLI for quantifying the number of neurons and structures which express c-fos in the brain stem in animals presenting normal REM sleep periods and compared them with those showing extended REM sleep periods induced either by AS or sleep deprivation.

Twenty-three male Wistar rats (180-200 g) were implanted for conventional sleep recordings. Screw electrodes were placed in the parietal bone for recording the EEG and in the left hippocampus (4 mm posterior to bregma and 3.8 mm lateral). Wire electrodes were additionally placed in the neck muscles for recording EMG. After one week recovery, the animals were habituated for three days to the inverted flower pot method for sleep deprivation⁴ and to the recording system which consisted of a cage within a sound attenuated room, where the animal was then connected to a Grass Model 79 D polygraph.

Four experimental groups were used. A sleep-deprived group (SD) which was maintained on the inverted flower pot for 48 h and three other groups: control, auditory stimulation (AS), and slow wave sleep (SWS) which were sleep deprived for only 3 h, before the recording session. At the beginning of the recording session, only SWS and waking were recorded during 30-60 min, following which only those animals within the control, AS and SD groups which presented 3 REM periods during the next 30-60 min were utilized. The AS group received an auditory stimulus in the form of a beep (80 dB, 20 ms, 1 kHz) which was applied every 20 s throughout the three REM periods. For the SWS group only

TABLE I

Percent \pm S.E.M. values of the different phases of the sleep-wake cycle for each group, and \pm S.E.M. duration of individual REM periods

Groups		Awake	Slow wave sleep	REM sleep	REM duration (min)
Control	(n = 6)	38.9 \pm 6	52.1 \pm 7	9.01 \pm 1	1.7 \pm 0.3
Auditory stimulation	(n = 6)	27.6 \pm 9*	61.2 \pm 9*	12.98 \pm 3*	2.92 \pm 0.3**
Sleep deprivation	(n = 6)	38 \pm 7	43.1 \pm 8	19 \pm 4*	3.14 \pm 0.4**
Slow wave sleep	(n = 5)	43.3 \pm 9	57 \pm 10	0 \pm 0	0 \pm 0

* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$.

those animals presenting waking and slow wave sleep during the recording session were included.

After the recording session, all the animals were maintained awake in a sound attenuated room for 30 min, and then deeply anesthetized and perfused with PBS 0.1 M followed by 4% paraformaldehyde. The brains were removed and placed in 30% sucrose in 0.1 M phosphate buffer until they sank. Frozen sections (40 μ m thick) were washed 3 times (10 min per wash) in 0.01 M PBS with 0.1% Triton X-100, and then incubated with 10% normal goat serum (Vector Labs.) for 20 min. The slices were then incubated with p 55 c-fos antibody, generously provided by Tom Curran of Roche Institute for Molecular Biology, at a dilution of 1/2000 for 72 h. After washing with PBS, the sections were processed for ABC immunohistochemistry as previously described⁷. The number of nuclei stained with pp 55 c-fos antibody per structure in the brain stem, were quantified with the aid of an Image Analyzer (MCID). Sections which corresponded from Bregma to six different antero-posterior levels -12.3, -11.6, -10.3, -9.3, -8.8 and -8.3²¹ were analyzed. Within these sections the following structures were quantified: solitary tract nucleus (NTS), parvocellular nucleus (PCR), magnocellular nucleus (Mc), raphé pallidus (RP), raphé dorsalis (RM), raphé dorsalis (RD), locus coeruleus (LC), parabrachial nucleus (PB), pedunculo pontine tegmental nucleus (PPT), laterodorsalis

tegmental nucleus (LDTG), subcoeruleus nucleus (SubC), and the pontine reticular formation (PRF). The data obtained from sleep recordings and FLI quantifications were evaluated by a one-way ANOVA and the Fisher test.

The results showed that groups AS and SD had a significant increase in total REM sleep percent and mean REM sleep period duration ($P < 0.05$ and $P < 0.001$, respectively), in comparison to control and SWS groups (see Table I). The SWS group had no REM sleep at all, while the AS and SD groups presented an increment of approximately 60% in mean REM duration with respect to the control group. In addition, Table I shows a significant increase in slow wave sleep in the AS and SWS groups ($P < 0.05$), and a decrease in waking in the AS group ($P < 0.05$).

As for the FLI data it was observed that groups AS and SD which showed an increase in REM sleep also showed an increment in the FLI neurons in several brain stem structures. Analysis of variance showed that in the AS and SD groups there was a significant increase in FLI neurons in PPT ($P < 0.001$), PB ($P < 0.001$), SubC ($P < 0.01$) and NTS ($P < 0.01$) (see Table II and Fig. 1). On the other hand, there were structures such as LC, RD and RM that presented no changes in FLI between any of the groups. In addition, Table II shows that there was an increase in FLI in LDTG ($P < 0.05$) and RP (P

TABLE II

Effects of AS and SD on the number (\pm S.E.M.) of Fos like-immunoreactive neurons in different brain stem structures

PCR, parvocellular nucleus; RP, raphé pallidus; NTS, solitary tract nucleus; LC, locus coeruleus; PB, parabrachial nucleus; PPT, pedunculo pontine tegmental nucleus; RD, raphé dorsalis; SubC, subcoeruleus nucleus; LDTG, laterodorsalis tegmental nucleus; RM, raphé dorsalis; AS, auditory stimulation; SD, sleep deprivation; SWS, slow wave sleep.

	PCR	RP	NTS	LC	PB	PPT	RD	SubC	LDTG	RM
Control (n = 6)	7.3 \pm 2	4.7 \pm 4	19.8 \pm 4	13.6 \pm 4	19.0 \pm 8	19.6 \pm 6	8.1 \pm 3	5.9 \pm 1	9.1 \pm 1.5	8.6 \pm 3
AS (n = 6)	9.5 \pm 2	4.8 \pm 1	28.4 \pm 3**	12.0 \pm 3	62.2 \pm 16***	41.2 \pm 5***	9.7 \pm 3	13.9 \pm 5**	11.7 \pm 3.6	5.6 \pm 4
SD (n = 6)	12.4 \pm 4	8.95 \pm 3*	35.4 \pm 8**	13.6 \pm 5	61.7 \pm 12***	32.6 \pm 9***	12.2 \pm 1	12.7 \pm 4**	13.94 \pm 4*	10.3 \pm 3
SWS (n = 5)	3.4 \pm 2*	6.0 \pm 2	16.7 \pm 3	11.3 \pm 3	20.6 \pm 3	14.0 \pm 2	10.7 \pm 3	5.6 \pm 1	9.0 \pm 2.01	9.0 \pm 2.5

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

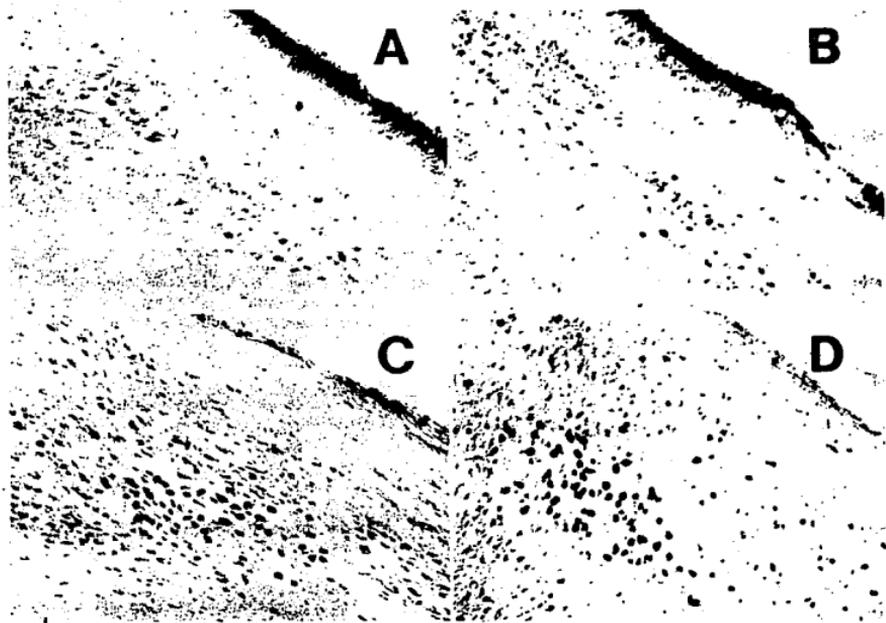


Fig. 1. Photomicrographs showing the Fos-like immunoreactivity of the parabrachial nucleus, in the different experimental groups. Note that panels D (auditory stimulation group) and C (sleep deprivation group) present a notable increase in immunoreactive cells, in relation to panels A (control) and B (slow wave sleep group).

< 0.05) only in the SD group. The PCR was the only structure where FLI was slightly lower ($P < 0.05$) in the SWS group as compared to all other groups. Finally, the PRF and Mc did not express Fos protein.

The results of this study show first of all that auditory stimulation also produces increases in REM sleep period duration in the rat. Therefore, since auditory stimulation influences REM duration in rats, cats⁹ and humans^{19,28}, it suggests that this phenomenon is not an isolated event restricted to a particular species.

The results further show that there are changes in FLI in a variety of brain stem structures. These changes can be divided into those structures which increased FLI, such as PPT, PB, SubC, NST, and those which showed no changes such as LC, RD and RM. In addition, there were structures such as RP and LDTG which increased only following recovery from 48 h of sleep deprivation. Moreover, PCR showed a diminished expression of FLI

in the rats belonging to the SWS group, whose only difference with the other groups was that they had no REM sleep periods. Finally, interestingly PRF and Mc did not show Fos protein expression.

In relation to the nuclei which showed increases in FLI it is interesting to note that they all have been shown to contain REM-ON cells^{10,24,26,30}. There is one exception here, the NST, where no one has recorded from these cells during REM sleep. However, one interesting observation is that NST cells are part of the relay cells of vagal afferents, where Puizillout et al.²² have shown that stimulation of these afferents induce prolonged REM periods.

On the other hand, those nuclei which have been reported to contain REM-OFF cells such as the LC, RD and RM^{12,15,31} showed no changes in FLI. It should be noted that it is not possible to observe a decrease in FLI expression as a result of a decrease in neuronal activ-

ity¹⁷. It is therefore conceivable that the absence of change in FLI reflects a decrease in neuronal activity. A notable exception were the RP cells, which despite having REM-OFF cells²⁷ presented a very small but significant increase in FLI during recovery from 48 h of REM deprivation. This difference, however, may be artifactual in view of the very low levels of *c-fos* expression in all groups. In relation to the LDTG cells which have REM-ON cells³⁰ they also showed a small increase in FLI but in the SD group only. We have no current explanation for the RP and LDTG results. However, the LDTG and coincidentally PPT are also structures shown to have an increase in glucose uptake in relation to REM sleep¹⁴. It should further be noted that FLI and glucose uptake are tightly correlated, although there are several exceptions²¹.

The PCR was the only structure in the entire study in which the number of FLI neurons was found to be less in a particular group. This occurred in the SWS group. It is possible that PCR which have REM-ON cells^{20,26} have a specific *c-fos* expression in relation to REM sleep, and since the PCR has no REM at all, it expressed less *c-fos*.

Finally, extensive work has shown that PRF and Mc play a regulatory role in REM sleep generation^{5,11,26,35}

however, the present results show that these structures are unable to express *c-fos*. There are certain situations^{13,16} in which FLI fails to map adequately functional pathways. We suppose that the methodology used here does not induce FLI in PRF and Mc in relation to REM sleep. In sum, it can be suggested that FLI increases significantly when REM sleep is augmented and that this increase appears to be correlated with those areas where most of the REM-ON cells have been reported to exist^{20,24,26,30}. Moreover, in some of these nuclei, microinjection of carbachol induces significant increases in REM sleep²⁰, while their destruction produces either a decrease in REM sleep or at least induces important modifications of their polysomnographic characteristics^{25,31}.

This study further suggests that the maintenance of REM sleep may depend not only on an increment in the activity of REM-ON cells, but also on an increase in the recruitment of active neurons. It is thus conceivable that REM duration is the result of an elevated tonus of excitability over a widespread group of nuclei.

This work was supported in part by FINESEN and Indecomiso UNAM. We wish to thank José Luis Mendoza-Ramírez and Jesús Méndez-Franco for their technical assistance and Mrs. Teresa Torres-Peralta for typing the manuscript.

- Arankowsky-Sandoval, G., García-Hernández, F., Aguilar-Roblero, R. and Drucker-Colín, R., REM sleep enhancement induced by sensory stimulation is prevented by kainic acid lesion of pontine reticular formation, *Brain Res.*, 494 (1989) 396-400.
- Arankowsky-Sandoval, G., Prospero-García, O., Aguilar-Roblero, R. and Drucker-Colín, R., Cholinergic reduction of REM sleep duration is reverted by auditory stimulation, *Brain Res.*, 375 (1986) 377-380.
- Baghdoyan, H., Rodrigo-Angulo, M., McCarley, R. and Hobson, A., Site-specific and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions, *Brain Res.*, 306 (1984) 39-52.
- Burbuley, A. and Tobler, I., Endogenous sleep-promoting substances and sleep regulation, *Physiol. Rev.*, 2 (1989) 605-670.
- Chase, M., Enomoto, S., Murakami, T., Nakamura, Y. and Taira, M., Intracellular potential of medullary reticular neurons during sleep and wakefulness, *Exp. Neurol.*, 71 (1981) 226-233.
- Dragunov, M. and Faulstich, R., The use of *c-fos* as a metabolic marker in neuronal pathway tracing, *J. Neurosci. Methods*, 29 (1989) 261-265.
- Dragunov, M., Peterson, M.R. and Robertson, H.A., Presence of *c-fos*-like immunoreactivity in the adult rat brain, *Eur. J. Pharmacol.*, 135 (1987) 113-114.
- Drucker-Colín, R., Arankowsky-Sandoval, G., Prospero-García, O., Jiménez-Anguiano, A. and Merchant-Nancy, H., The regulation of REM sleep: some considerations on the role of vasoactive intestinal peptide, acetylcholine and sensory modalities. In M. Mancia and G. Marini (Eds.), *The Diencephalon and Sleep*, Raven, New York, NY, 1990, pp. 313-330.
- Drucker-Colín, R., Bernal-Pedraza, J., Fernández-Cancino, F. and Morrison, A.R., Increasing PGO spike density by auditory stimulation increases the duration and decreases the latency of rapid eye movement (REM) sleep, *Brain Res.*, 278 (1983) 308-312.
- Gilbert, A.K. and Lydic, R., Parabrachial neuron discharge in the cat is altered during carbachol-induced REM-like state (DCarb), *Neurosci. Lett.*, 120 (1990) 241-244.
- Hobson, J.A., Lydic, R. and Baghdoyan, H.A., Evolving concepts of sleep cycle generation: from brain centers to neuronal populations, *Behav. Brain Sci.*, 9 (1986) 371-428.
- Hobson, J.A., McCarley, R.W. and Wyzanski, P.W., Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups, *Science*, 189 (1975) 55-58.
- Hunt, P.S., Pini, A. and Evans, G., Induction of *c-fos*-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation, *Nature*, 328 (1987) 632-634.
- Lydic, R., Baghdoyan, H.A., Hubbard, E.V., Bomyak, M.R., DeJoseph, R. and Hawkins, R.A., Regional brain glucose metabolism is altered during rapid eye movement sleep in the cat: a preliminary study, *J. Comp. Neurol.*, 304 (1991) 517-529.
- McGinty, D. and Harper, R.M., 5-HT containing neurons: unit activity during sleep, *Sleep Res.*, 1 (1972) 27-32.
- Menetrey, D., Gannon, A., Levine, J.D. and Basbaum, A.I., Expression of *c-fos* protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic, articular, and visceral stimulation, *J. Comp. Neurol.*, 285 (1989) 177-195.
- Morgan, J.J., Cohen, R.D., Hempstead, J.L. and Curran, T., Mapping patterns of *c-fos* expression in the central nervous system after seizure, *Science*, 237 (1987) 192-197.
- Morgan, J.J. and Curran, T., Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible protooncogenes *fos* and *jun*, *Annu. Rev. Neurosci.*, 14 (1991) 421-451.
- Monte Armady, M., Swickel, P. and Lacombe, P., Modification of REM sleep behavior by REMs contingent stimulation in man, *Physiol. Behav.*, 37 (1986) 543-548.
- Netick, A., Chem, J. and Dement, W., Neuronal activity specific to REM sleep and its relationship to breathing, *Brain Res.*, 120 (1977) 197-207.
- Payton, C. and Watson, C., *The Rat Brain in Stereotaxic Co.*

- ordinates*, Academic Press, New York, NY, 1986.
- 22 Puzillou, J. and Foutz, A., Vago aortic nerves stimulation and REM sleep, evidence for a REM triggering and a REM maintenance factor, *Brain Res.*, 111 (1976) 181-184.
 - 23 Sagar, S.M., Sharp, F.R. and Curran, T., Expression of *c-fos* protein in brain: metabolic mapping at cellular level, *Science*, 240 (1988) 1328-1331.
 - 24 Saito, H., Sakai, K. and Jouvet, M., Discharge patterns of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking, *Brain Res.*, 134 (1977) 59-72.
 - 25 Sakai, K., Some anatomical and physiological properties of ponto-mesencephalic tegmental neurons with special reference to the PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. In J.A. Hobson and M.A. Brazier (Eds.), *The Reticular Formation Revisited*, Raven, New York, NY, 1980, pp. 427-447.
 - 26 Sakai, K., Executive mechanisms of paradoxical sleep, *Arch. Ital. Biol.*, 126 (1988) 239-257.
 - 27 Sakai, K., Vanni-Mercier, G. and Jouvet, M., Evidence for the presence of PS-off neurons in the ventromedial medulla oblongata of freely moving cats, *Exp. Brain Res.*, 49 (1983) 311-314.
 - 28 Salin-Pascual, R.J., Granados-Fuentes, D., De la Fuente, J.R. and Drucker-Colln, R., Effects of auditory stimulation during rapid eye movement sleep in healthy volunteers and depressed patients, *Psychiatry Res.*, 38 (1991) 237-246.
 - 29 Siegel, J.M. and Rogawky, M.A., A function for REM sleep: regulation of noradrenergic receptor sensitivity, *Brain Res. Rev.*, 13 (1988) 213-223.
 - 30 Steriade, M., Thalamocortical systems: Inhibition at sleep onset and activation during dreaming sleep. In M. Mancica and G. Marini (Eds.), *The Diencephalon and Sleep*, Raven, New York, NY, 1990, pp. 231-248.
 - 31 Trulsson, M.E., Crisp, T., Trulsson, V.M., Activity of serotonin-containing nucleus centralis superior (raphé medianus) neurons in freely moving cats, *Exp. Brain Res.*, 54 (1984) 33-44.
 - 32 Vertes, R.P., Brain stem control of the events of REM sleep, *Prog. Neurobiol.*, 22 (1984) 241-288.
 - 33 Webster, H.H. and Jones, B.E., Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states, *Brain Res.*, 458 (1988) 285-302.
 - 34 Yamamoto, K., Mamelak, A.N., Quattrochi, J.J. and Hobson, A., A cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: Locus of the sensitive region, *Neuroscience*, 39 (1990) 279-293.
 - 35 Yamamoto, K., Mamelak, A.N., Quattrochi, J.J. and Hobson, J.A., A cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: spontaneous and drug-induced neuronal activity, *Neuroscience*, 39 (1990) 295-304.

El material y metodos así como los resultados obtenidos en el presente trabajo, han sido parcialmente descritos en el artículo anexo. Estos temas son revisados en extenso en la siguiente sección.

MATERIAL Y METODOS

Treinta y ocho ratas macho (180-200 gr) de la cepa Wistar fueron implantadas para registros convencionales de sueño. Bajo anestesia con hidrato de cloral (400 mg/kg intra muscular) y en condiciones de asepsia, fueron colocados electrodos de tornillo de acero inoxidable, tanto en los huesos parietales para registrar EEG, como a 1 mm posterior de Bregma y 1 mm lateral para registrar la actividad hipocampal. Para el registro del ENG se insertaron alambres de acero inoxidable recubiertos de teflón en los músculos de la nuca. Los electrodos se soldaron a un conector Winchester modelo SME y, entonces, se fijaron al cráneo con acrílico dental. Los animales fueron tratados con antibióticos (1,000,000 U/kg de Penicilina G) al finalizar la implantación.

Después de una semana de recuperación las ratas fueron habituadas durante tres días al método del florero invertido para la privación selectiva de sueño MOR (Vogel, 1975) y al sistema de registro polisomnográfico. El método del florero invertido consiste en poner a la rata en un pedestal de 5 cm de diámetro y 20 cm de alto. Este pedestal está colocado en un tanque de 3 galones de capacidad con un nivel de agua de 4 cm, en el cual los animales tienen libre acceso a comida y agua. Por otro lado, el sistema de registro consta de una cámara sonoamortiguada y faradizada, que se encuentra conectada a un polígrafo Grass modelo 79 D. En esta cámara hay ventilación e iluminación constante. Adicionalmente, la conducta de las ratas puede ser observada a través de un sistema de espejos durante el registro.

Una vez terminada la habituación, los animales fueron divididos en cinco grupos experimentales. Los grupos Control, Estimulación Auditiva (EA) y Sueño Lento (SL) fueron privados de sueño durante tres horas antes del registro. Los otros dos grupos: Privación de Sueño (PS) y Vigilia (V) fueron privados por 48 horas (ver figura 12).

La sesión de registro comenzó a las 14:30 hr en todos los grupos, a excepción del grupo V (n=6) donde los animales no fueron registrados después de la privación. Durante la sesión de registro solamente fueron utilizados los animales de los grupos Control (n=8), EA (n=8) y PS (n=8), que presentaron vigilia y sueño lento durante un primer intervalo de 30-60 min, pero que además presentaron tres periodos de SMOR a lo largo de un segundo intervalo de 30-60 min. El grupo EA recibió un estímulo auditivo en forma de "bip" (80 dB, 20 ms, 1 kHz) que fue aplicado cada 20 s, a lo largo de los tres periodos de SMOR registrados. Para el grupo SL (n=8) los animales que solamente presentaron vigilia y sueño lento, de manera espontánea, durante la sesión de registro (60-120 min) fueron incluidos.

Al finalizar la sesión de registro, y en el caso de las ratas del grupo V después de la privación de sueño, todos los animales fueron mantenidos despiertos en una cámara sonoamortiguada por 30 min: tiempo de sobrevivencia (ver figura 12).

Las longitudes de los dos intervalos de registro (30-60 min) fueron definidas para minimizar las variaciones intra e inter grupo en los valores del ciclo vigilia-sueño. Además, en el caso

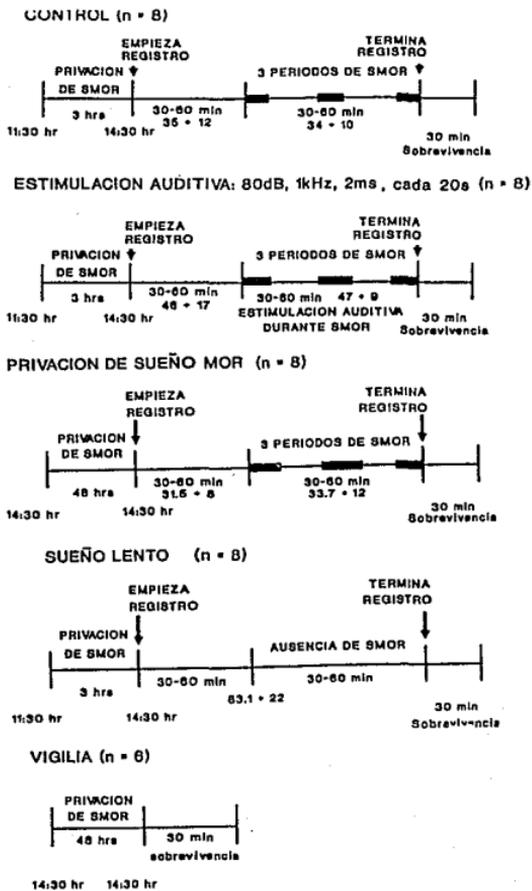


Figura 12. Representación gráfica del diseño experimental seguido en el presente estudio. Obsérvese que cada grupo experimental presenta un periodo de privación de sueño y uno o dos intervalos de registro. En el último intervalo se deben registrar 3 periodos de SMOR en los grupos control, estimulación auditiva y privación de sueño MOR. Existe un periodo de sobrevivencia de 30 min, posterior al registro polisomnográfico. 73

de la duración del segundo intervalo y del tiempo de sobrevivencia (30 min), se contempló la capacidad temporal de traducción de Fos en el cerebro in vivo: se ha observado que el número de células IRF alcanza su máximo 30 minutos después de producida una convulsión con metrazole (ver figura 13). Este pico en la IF se mantiene durante 90 min, de tal forma que potencialmente los tres periodos de SMOR registrados pudieron haber tenido una influencia máxima en la expresión de c-fos analizada posteriormente.

Una vez concluido el tiempo de sobrevivencia, los animales fueron anestesiados con una sobredosis de pentobarbital y perfundidos con 300 ml de PBS 0.1 M seguidos de 200 ml de paraformaldehído al 4% en PBS. Los cerebros fueron removidos y colocados en una solución de sacarosa al 30 % durante 48 hr. Posteriormente se hicieron cortes sagitales de 40 μ m de grosor en un crióstato (Scientific Instruments), a temperaturas entre los -13 y los -18 C. Los cortes fueron lavados 3 veces (10 min por lavado) en 0.01 M PBS con 0.1 % de triton X-100, y posteriormente incubados 20 min en 10 % de suero normal de cabra (Vector Laboratories). Los cortes entonces, fueron incubados con el anticuerpo anti Fos p 55, donado por el Dr. Tom Curran del Roche Institute for Molecular Biology, a una dilución 1/2000 por 72 hr a 4 C. Después de 3 lavados, de 10 min cada uno, los cortes fueron procesados para la técnica inmunohistoquímica de ABC. En breve, ésta técnica consiste en incubar los cortes por 2 horas con un anticuerpo anti IgG de conejo (1/200) en una solución PBSGT: PBS 0.01 M con 0.3 % de tritón y 1 % de suero normal de cabra. Después los cortes son lavados por 30 min e

CURVA TEMPORAL DE EXPRESION DE c-fos

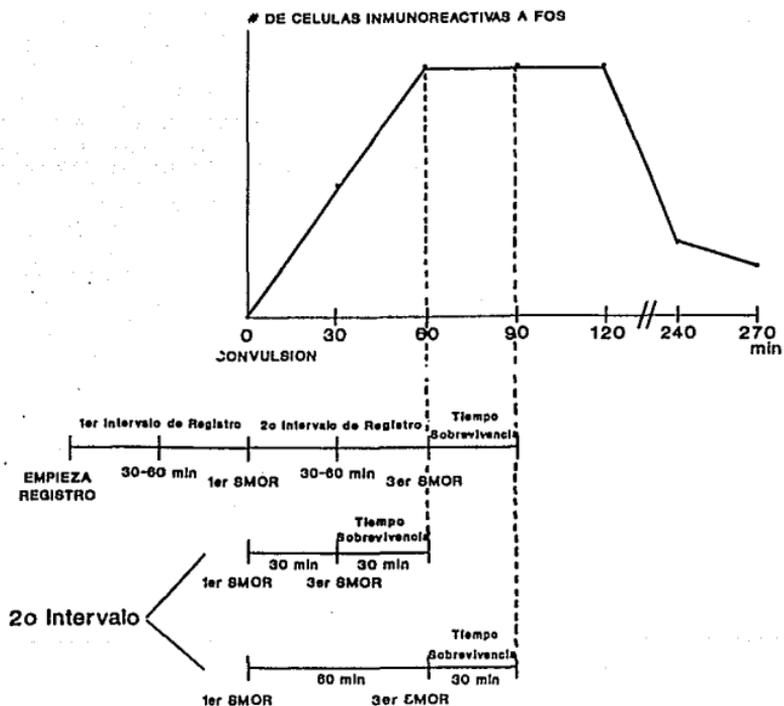


Figura 13. En la parte superior de esta figura se muestra la cinética de expresión de la proteína Fos en la corteza cerebral, después de una convulsión inducida por metrazole (tomada de Morgan y col., 1986). En la porción inferior se muestran los dos intervalos de registro del presente estudio. Obsérvese como posiblemente los 3 periodos de SMOR registrados en el segundo intervalo que tiene un mínimo de 30 min y un máximo de 60 min, pueden inducir el número máximo de células inmunoreactivas a Fos, como se indica con líneas punteadas.

incubados por 2 horas en PBSGT con avidina y biotina a una dilución 1/60. Nuevamente los cortes son lavados 3 veces e incubados por 5 min en 0.1 M de trizma (ph 7.4) con Diamino Benzidina. Se agrega entonces H2O2 (0.7 % final) y se espera a que la reacción específica sea evidente. Al final, los cortes son lavados 3 veces, colocados en portaobjetos con una capa de gelatina, deshidratados y montados con Permount.

El número de núcleos inmunoreactivos al Fos (IF) por estructura fue cuantificado con la ayuda de un analizador de imágenes (MCID). Los cortes que correspondieron a ocho diferentes niveles en el plano antero-posterior fueron analizados de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson, 1985. La tabla 1 muestra las estructuras y los niveles que fueron cuantificados. En esta tabla se puede observar que existen 3 niveles de muestreo por estructura: Anterior, Medial y Posterior. Sin embargo, hay varias excepciones: el núcleo laterodorsal tegmental (LDTG) con 2 niveles, el rafe magnus (RMAG) con 4 niveles, el parvocelular (PCR) con 4 niveles, el rafe obscuro (RO) con 2 niveles, el rafe pontis (RPON) con 1 nivel, el rafe medial (RM) con 1 nivel y el pedunculo pontino (PPT) con 1 nivel. Además, para cada animal se calculó el promedio de células IF por estructura, a partir de los datos de los diferentes niveles analizados. También fueron analizadas varias estructuras del tallo cerebral que forman parte de la vía auditiva, como son: el núcleo coclear dorsal, el coclear ventral anterior, el núcleo del trapecio y del lemniscolateral, y el colículo inferior (ver tabla 2).

Es importante señalar que el área analizada para cada estructura por nivel antero-posterior fue constante gracias a la

definición de límites espaciales de muestreo que permita hacer el MCID.

Los datos de los registros polisonográficos fueron calificados visualmente (Takegushi, 1979). Se calculó el porcentaje de cada fase del ciclo vigilia-sueño y la media de los periodos de SMOR. Estos datos, junto con los del análisis de la expresión de c-fos fueron evaluados a través de un ANOVA de una vía. Además se aplicó la prueba de Fisher para determinar donde se encontraban las diferencias. También fue calculada la media y el error estandar de la longitud de los dos intervalos de registro previamente mencionados, en cada grupo experimental. Por último, se calculó el número de células IF por área analizada en cada estructura, a partir del promedio de neuronas que expresaron c-fos por estructura y del valor en milímetros de los límites espaciales de muestreo.

RESULTADOS

1) REGISTRO POLISONOGRAFICO

Los resultados de los registros (ver figura 14) mostraron un aumento en el porcentaje ($F= 28$) y la duración ($F=37.9$) de los periodos de SMOR en los grupos EA y PS, en comparación a los grupos control y SL ($p < 0.01$ y $p < 0.001$ respectivamente). El grupo SL no presentó SMOR, mientras que los grupos EA y PS mostraron un incremento aproximado del 60% en la duración media de los periodos de SMOR. En la figura 14 se observa además, un incremento en el porcentaje de SL ($F=8.14$ y $p < 0.05$) en el grupo EA y una disminución en la Vigilia ($F=6.8$ y $p < 0.01$) en el mismo

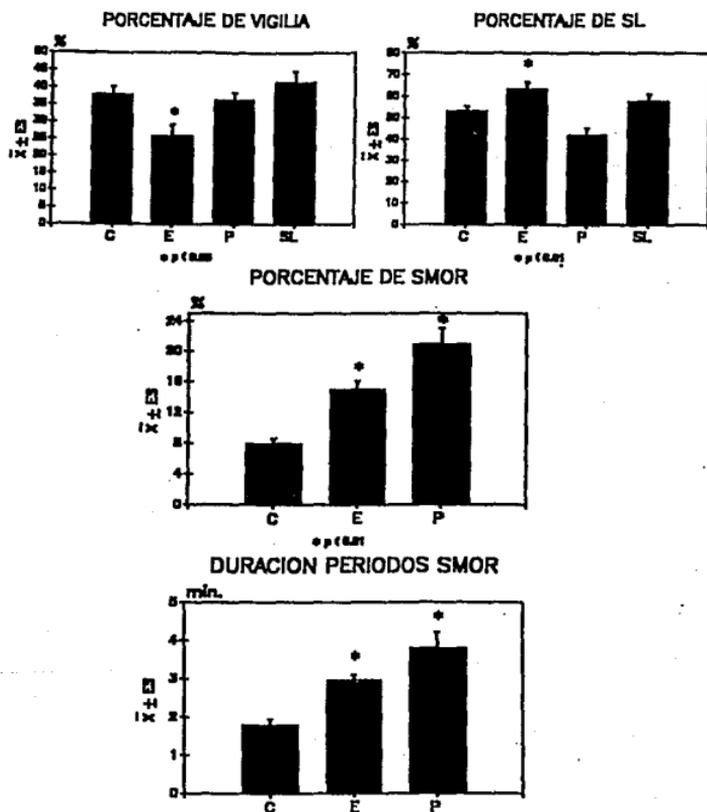


Figura 14. En esta figura se indican los porcentajes de las diferentes fases del ciclo vigilia-sueño; y la duración media de los periodos de sueño MOR, en los diferentes grupos experimentales. En los grupos E (Estimulación Auditiva) y P (Privación de SMOR) se observa un aumento en la duración media y el porcentaje de SMOR.

C = Control

SL = Sueño Lento

grupo. De manera paradójica el grupo de SL no presentó cambios en los porcentajes de estas dos fases. Adicionalmente, en la figura 14 se muestra la media y el error estandar de los dos intervalos de registro en cada grupo experimental.

2) INMUNOREACTIVIDAD A Fos: POR NIVEL ANTERO-POSTERIOR

En el caso de los datos de la IF se observó que los grupos EA y PS, que mostraron un aumento en el SMOR, también presentan un incremento en el número de células IF en varias estructuras (ver tabla 1). El análisis de varianza mostró que en los grupos EA y PS hubo un aumento significativo en los núcleos del tracto solitario (TSOL), subcoeruleus dorsal (SUBCD), parabraquial lateral (PB) y laterodorsal tegmental (LDTG) en cada nivel antero-posterior analizado. Sin embargo, los núcleos subcoeruleus ventral (SUBCV) y parvocelular (PCR), si bien presentaron un incremento de células IF en los grupos EA y PS, este aumento no se encontró en todos los niveles analizados: Posterior (B -9.68 mm) y anterior (B -10.0 mm) respectivamente.

En los núcleos RO, RM y rafe pálido (RPAL) no se observaron diferencias en el número de neuronas IRF entre los cinco grupos, aunque en la última estructura mencionada, el grupo SL presentó un aumento significativo en el nivel anterior (B -11.6) (ver tabla 1).

Por otro lado, el análisis estadístico mostró que dos estructuras presentaron cambios heterogéneos en la IF, dependiendo del nivel antero-posterior y del grupo experimental:

1) El Locus Coeruleus (LC) mostró una disminución significativa en el grupo V en los niveles Posterior (B -10.0 mm) y Anterior (B

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

$\bar{x} \pm ES$ DEL NUMERO DE CELULAS INMUNOREACTIVAS AL c-fos

TABLA 1a.

1) NUCLEO DEL TRACTO SOLITARIO

	POSTERIOR (B-13.3 mm)	MEDIAL (B-12.3 mm)	ANTERIOR (B-11.6 mm)
C	10.4 ± 2.0	22.1 ± 4.0	7.7 ± 1.0
E	24.6 ± 3.0*	38.1 ± 2.0*	19.3 ± 2.0*
P	29.1 ± 3.0*	38.7 ± 9.0*	17.9 ± 3.0*
SL	8.1 ± 1.0	22.0 ± 1.0	9.2 ± 1.0
V	10.1 ± 3.0	8.9 ± 9.0	4.8 ± 3.0

2) NUCLEO PARVOCELULAR

	POSTERIOR (B-13.3 mm)	MEDIAL POSTERIOR (B-12.3 mm)	MEDIAL ANTERIOR (B-11.6 mm)	ANTERIOR (B-10.0 mm)
C	21.1 ± 0.6	3.4 ± 1.0	3.7 ± 1.0	2.2 ± 0.7
E	7.6 ± 1.0**	11.8 ± 2.0**	10.6 ± 2.0**	2.7 ± 0.4
P	6.3 ± 1.0**	8.8 ± 2.0**	10.9 ± 2.0**	9.3 ± 2.0
SL	2.3 ± 0.7	3.0 ± 1.0	2.3 ± 1.0	0.6 ± 0.5
V	2.5 ± 1.0	3.0 ± 1.0	1.0 ± 1.5	0.5 ± 0.5

3) RAFE PALIDO

	POSTERIOR (B-13.3 mm)	MEDIAL (B-12.3 mm)	ANTERIOR (B-11.6 mm)
C	0.7 ± 0.4	2.1 ± 0.8	2.7 ± 1.0
E	0.8 ± 0.3	3.2 ± 0.7	5.0 ± 1.0
P	1.3 ± 0.5	2.7 ± 0.8	3.8 ± 1.0
SL	1.5 ± 0.6	1.6 ± 0.7	7.6 ± 1.0***
V	0.6 ± 0.4	0.5 ± 0.7	1.8 ± 1.0

4) RAFE OSCURO

	POSTERIOR (B-13.3 mm)	ANTERIOR (B-12.3 mm)
C	0.11 ± 0.1	2.2 ± 1.4
E	0.37 ± 0.3	1.3 ± 0.6
P	0.37 ± 0.3	0.8 ± 0.4
SL	0.12 ± 0.1	0.8 ± 0.5
V	0.16 ± 0.1	0.3 ± 0.3

*** p < 0.05

** p < 0.01

* p < 0.001

5) RAPE MAGNUS

TABLA 1b.

	POSTERIOR (B-11.6 mm)	MEDIAL-POSTERIOR (B-10.0 mm)	MEDIAL-ANTERIOR (B-9.68 mm)	ANTERIOR (B-9.3 mm)
C	3.2 ± 1.0	1.2 ± 0.6	2.3 ± 0.9	1.7 ± 0.9
E	1.6 ± 0.9	2.5 ± 0.8	2.2 ± 0.9	1.6 ± 0.7
P	3.7 ± 1.0	3.6 ± 1.5	2.8 ± 0.8	4.1 ± 2.0
SL	3.3 ± 1.0	1.2 ± 0.6	1.6 ± 0.4	4.6 ± 3.0
V	1.8 ± 0.4***	0.5 ± 0.6	0.5 ± 0.5**	0.0 ± 0.0

6) LOCUS COERULEUS

	POSTERIOR (B-10.0 mm)	MEDIAL (B-9.68 mm)	ANTERIOR (B-9.3 mm)
C	3.3 ± 0.9	3.8 ± 0.9	13.7 ± 3.6
E	5.7 ± 0.9	6.2 ± 0.9	8.1 ± 1.3
P	4.3 ± 1.1	5.5 ± 1.0	9.3 ± 1.5
SL	3.3 ± 0.7	7.5 ± 1.9	10.5 ± 1.9
V	1.8 ± 0.4***	4.3 ± 0.4	3.8 ± 0.3**

7) NUCLEO SUBCOERULEUS DORSAL

	POSTERIOR (B-9.68 mm)	MEDIAL (B-9.3 mm)	ANTERIOR (B-8.3 mm)
C	2.7 ± 1	3 ± 0.9	7 ± 1
E	5.25 ± 0.9***	10.2 ± 3 ***	12.1 ± 1.1 ***
P	5.87 ± 1 ***	10.1 ± 2 ***	11.5 ± 1 ***
SL	2.85 ± 0.6	4.6 ± 0.9	3 ± 1
V	1.5 ± 0.8	2 ± 0.9	2.8 ± 1

8) NUCLEO SUBCOERULEUS VENTRAL

	POSTERIOR (B-9.68 mm)	MEDIAL (B-9.3 mm)	ANTERIOR (B-8.8 mm)
C	2.4 ± 1	0.7 ± 0.3	0.8 ± 0.2
E	4.37 ± 1	4 ± 0.8 **	5.8 ± 1 **
P	6.5 ± 1 ***	5.12 ± 0.8 **	4.3 ± 0.7 **
SL	1.3 ± 0.4	0.87 ± 0.4	0.12 ± 0.12
V	2.3 ± 0.8	1.8 ± 0.7	0.16 ± 0.16

*** p < 0.05

** p < 0.01

* p < 0.001

9) NUCLEO PARABRAQUIAL

TABLA 1c.

	POSTERIOR (B-9.68 mm)	MEDIAL (B-9.3 mm)	ANTERIOR (B-8.8 mm)
C	2.5 ± 1	17.3 ± 3	20.6 ± 3
E	5.7 ± 0.6 ***	60.3 ± 8 *	56.6 ± 9 *
P	6.7 ± 1 **	48 ± 7 *	61.5 ± 6 *
SL	1.5 ± 0.6	17.1 ± 1	18.3 ± 4
V	2.8 ± 0.6	11 ± 5.7	17.1 ± 3

10) RAPE DORSAL

	POSTERIOR (B-9.3 mm)	MEDIAL (B-8.8 mm)	ANTERIOR (B-8.3 mm)
C	13.6 ± 2	5.6 ± 1	4.1 ± 0.9
E	15.8 ± 3	6.8 ± 0.9	4.5 ± 0.8
P	23.8 ± 3 ***	10.3 ± 3 ***	4.6 ± 0.6
SL	1.5 ± 3	6.2 ± 0.7	5.8 ± 0.8
V	6.2 ± 1 ***	4.1 ± 0.6	4.1 ± 0.6

11) NUCLEO LATERODORSAL TEGMENTAL

	POSTERIOR (B-9.3 mm)	ANTERIOR (B-8.8 mm)
C	9.7 ± 1	9.5 ± 0.9
E	14.5 ± 2 **	12.8 ± 2 ***
P	15.6 ± 1 **	14.2 ± 1 ***
SL	7.8 ± 1	6.7 ± 1
V	4.3 ± 1.8	4.3 ± 1.9 ***

12) RAPE PONTIS

13) RAPE MEDIAL

14) NUCLEO
PEDUNCULO
PONTINO

	(B-8.8 mm)	(B-8.3 mm)	(B-8.3 mm)
C	9 ± 1	6.1 ± 1	18.1 ± 1
E	11.1 ± 2	7.3 ± 2	34.8 ± 4 *
P	14.6 ± 1	12 ± 4	31.5 ± 1 *
SL	12.1 ± 1	6.6 ± 2	12.5 ± 1
V	2 ± 1 **	5.1 ± 2	7.6 ± 4.2

*** p < 0.05

** p < 0.01

* p < 0.001

TABLA 1. En esta tabla se muestra el número de células inmunoreactivas a Fos ($\bar{x} \pm ES$), por nivel antero-posterior analizado en diferentes estructuras del tallo cerebral.

-9.3 mm). No se observaron cambios en el nivel Medial (B -9.68 mm).

2) El Rafe Dorsal (RD) presentó un aumento significativo en el grupo PS en los niveles medial (B - 8.8 mm) y Posterior (B -9.3 mm). En el último nivel citado, el grupo V mostró decremento en relación a los otros grupos. Por último, como se observa en la tabla 1, no se presentaron diferencias entre los grupos experimentales en el nivel anterior (B -8.3 mm).

3) INMUNOREACTIVIDAD AL Fos: POR ESTRUCTURA

La evaluación estadística del promedio de células IF por estructura, calculado a partir de los datos de cada nivel antero-posterior, mostraron cambios en la expresión de c-fos en varias estructuras del tallo cerebral. Estos cambios pueden ser agrupados en:

- 1) Las estructuras que mostraron un aumento significativo en la IF en los grupos EA y PS, como son los núcleos PCR ($F=10.8$ y $p < 0.01$), TSOL ($F=11$ y $p < 0.001$), SUBCD ($F=8.4$ y $p < 0.01$), SUBCV ($F=11.3$ y $p < 0.001$), PB ($F=23$ y $p < 0.001$), LDTG ($F=9.9$ y $p < 0.02$) y PPT ($F=12$ y $p < 0.001$) (ver figuras 15 y 16).
- 2) Las estructuras que no manifestaron cambios como en el caso de los núcleos RO y RM (ver figura 17).
- 3) Las estructuras que presentaron una disminución significativa en el grupo V, como son las estructuras LC ($F=2.2$ y $p < 0.05$), RPAL ($F=3$ y $p < 0.05$), RD ($F=4.2$ y $p < 0.01$), RMAG ($F=2.7$ y $p < 0.05$) y RPON ($F=6.9$ y $p < 0.01$) (ver figura 18).
- 4) Las estructuras en las que no se observó IRF: FRP y Mc.

Finalmente, el cálculo del número de neuronas IRF por área

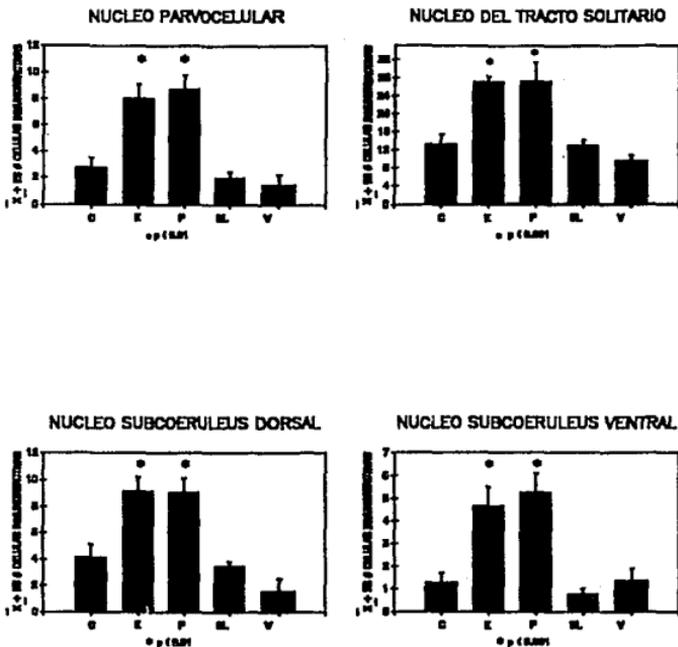


Figura 15. En esta figura se indica el aumento en el número de células inmunoreactivas a Fos en los grupos E (Estimulación Auditiva) y P (Privación de SMOR), en los núcleos Parvocelular, del tracto solitario, y del subcoeruleus dorsal y ventral.

C = Control.

SL = Sueño lento,

V = Vigilia

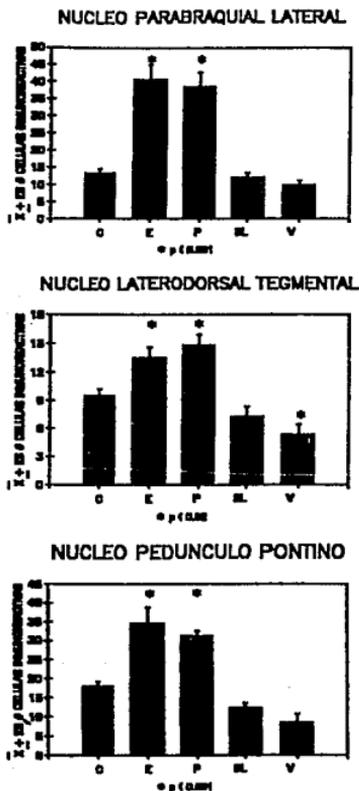


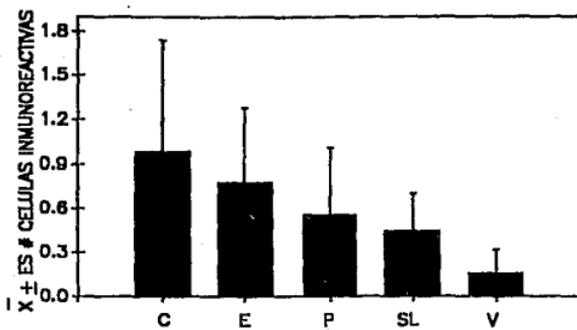
Figura 16. En estas gráficas se muestra el número de células inmuno-reactivas a Fos ($\bar{X} \pm ES$) en varias estructuras de la transición puente-mesencéfalo. Obsérvese que los grupos E (Estimulación Auditiva) y P (Privación de SMOR) presentan un aumento en la inmunoreactividad a Fos en las 3 estructuras mostradas.

C = Control

SL = Sueño Lento

V = Vigilia

RAFE OSCURO



RAFE MEDIAL

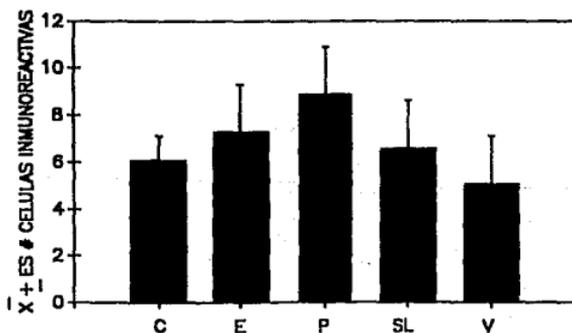


Figura 17. En estas gráficas se muestran el número de células inmunoreactivas-Fos ($\bar{X} \pm ES$) en el rafe oscuro y el rafe medial. En estas dos estructuras, como se puede observar, no se indujeron cambios en los diferentes grupos experimentales.

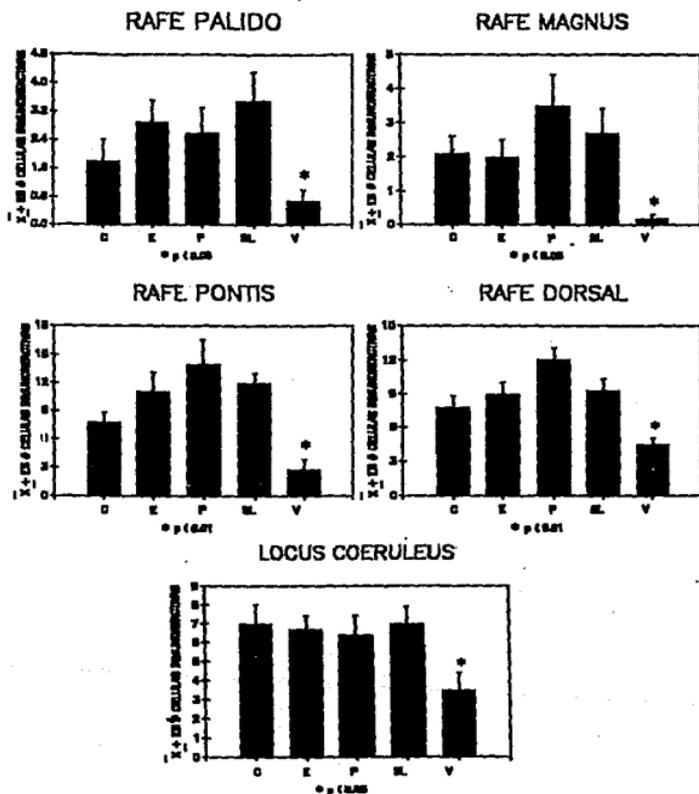
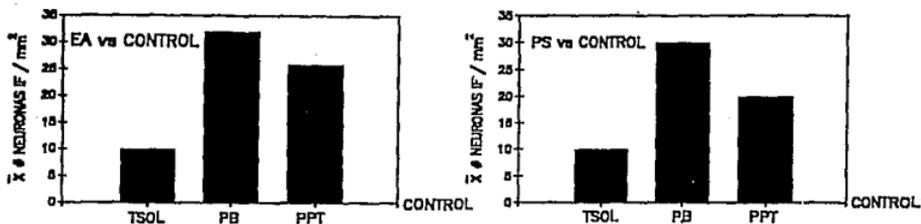


Figura 1B. Gráficas que representan el número de células inmunoreactivas a Fos ($\bar{X} \pm ES$) en el Locus Coeruleus y el rate pálido, magnus, pantis y dorsal. Nótese como el grupo V (vigilia) sufre una "disminución" significativa en la expresión de c-fos en estas estructuras.

C = Control E = Estimulación Auditiva P = Privación de SMOR

SL = Sueño lento

DIFERENCIAS AMPLIAS



DIFERENCIAS MODERADAS

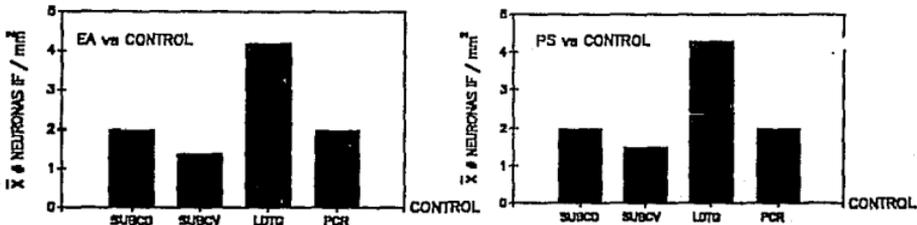


Figura 19. Representación gráfica de la densidad ($\bar{x} \pm ES$) de las neuronas inmuno-reactivas a Fos en las estructuras que mostraron un aumento en la expresión de c-fos en los grupos EA (Estimulación Auditiva) y PS (Privación de Sueño MOR) con respecto al control. Las estructuras fueron divididas en 2 grupos: diferencias amplias y diferencias moderadas, según la magnitud del cambio producido por la EA o la PS.

analizada, indica que los núcleos TSOL, PB y PPT presentaron una mayor capacidad para expresar c-fos en los grupos EA y PS (ver figura 19).

4) INMUNOREACTIVIDAD AL Fos: VIA AUDITIVA

El análisis estadístico del número de células inmunoreactivas en las estructuras de la vía auditiva no mostró cambios entre los grupos experimentales. En la tabla 2 se puede observar que en los núcleos coclear dorsal, coclear ventral anterior, del trapecio y del lemnisco lateral la IF no presentó diferencias significativas. Sin embargo, el Colículo inferior mostró un decremento significativo en el grupo V.

Por otra parte, en los núcleos lateral y posterior de la oliva superior no se observó IF.

Tabla 2

$\bar{x} \pm ES$ DEL NUMERO DE CELULAS

INMUNOREACTIVAS AL c-fos EN LA VIA AUDITIVA

	NUCLEO COCLEAR DORSAL (B-11.6 mm)	NUCLEO COCLEAR VENTRAL ANTERIOR (B-10.0 y -9.68 mm)	NUCLEO DEL TRAPEZIO (B-9.68,-9.3 y -8.8mm)	NUCLEO DEL LEMNISCO LATERAL (B-8.3 y -8.8mm)	COLICULO INFERIOR (B-8.3 y -8.8mm)
C	27.2 \pm 8	5.4 \pm 4.8	6.3 \pm 1.0	14.1 \pm 2.5	61.1 \pm 9.0
E	29.3 \pm 7	8.7 \pm 6.4	7.5 \pm 1.6	15.5 \pm 3.0	72.1 \pm 9.0
P	16.2 \pm 7	2.7 \pm 2.5	7.5 \pm 0.8	10.1 \pm 1.5	61.5 \pm 12.0
SL	2.0 \pm 5	3.5 \pm 3.2	7.0 \pm 1.1	10.4 \pm 1.7	48.5 \pm 7.0
V	23.0 \pm 9	2.8 \pm 2.0	4.0 \pm 1.3	7.6 \pm 2.8	19.5 \pm 4.0*

Los núcleos Lateral y Superior de la Oliva superior no expresan c-fos

* p < 0.01

TABLA 2. Tabla donde se indica el número de células inmunoreactivas a Fos en los relevos de la vía auditiva del tallo cerebral. Note que los núcleos de la oliva superior no tienen la capacidad de expresar el proto-oncogen c-fos.

DISCUSION

Los resultados del presente estudio muestran una relación entre el aumento en la duración del SMOR, inducido por la EA o la PS, y el incremento en la expresión del proto-oncogen c-fos en varias estructuras del tallo cerebral, cuyo papel activo en la regulación del SMOR ha sido demostrado a través de diferentes aproximaciones experimentales. Los resultados indican, además, que la privación selectiva de SMOR induce las condiciones mínimas de inmunoreactividad al Fos en las estructuras monoaminérgicas del tallo cerebral, las cuales no presentan cambios en la expresión del c-fos en relación a la duración del SMOR. El presente estudio sugiere que el aumento en la duración del SMOR está regulado por un incremento en el número de células activas, en varias estructuras del tallo cerebral, muestreadas de manera simultánea. Adicionalmente, los resultados obtenidos sugieren que la privación selectiva de SMOR produce una disminución en la reactividad del sistema monoaminérgico del tallo cerebral, fenómeno que juega un papel importante en el rebote de sueño. Por último, los resultados indican que el sistema monoaminérgico del tallo cerebral no está involucrado en el mecanismo de mantenimiento del SMOR.

Para mayor sistematización, la discusión será dividida en secciones:

REGISTRO POLIGRAFICO

El análisis de los registros polisomnográficos muestra diferentes resultados. Entre estos, uno de los más interesantes es el hecho de que la estimulación auditiva en la rata también

produce un aumento en la duración media de los periodos de SMOR y en el porcentaje de esta fase. Debido a que este efecto ha sido demostrado en el gato (Drucker-Colin y col., 1983) y en el humano (Mouze-Amadi y col, 1987; Salin-Pascual y col, 1990), se sugiere que el incremento del SMOR por la aplicación de estímulos auditivos no es un fenómeno aislado o restringido a una sola especie.

Dentro de este contexto se puede proponer que la estimulación sensorial aplicada durante el sueño es una herramienta que puede ser utilizada en el estudio de la neurofisiología del SMOR, ya que permite incrementar la duración de esta fase y resaltar los procesos involucrados en el SMOR, en los animales de laboratorio más utilizados. Además, esta manipulación es económica, sencilla y produce un aumento en el SMOR mediante un proceso fisiológico. Adicionalmente, la estimulación sensorial también puede ser un elemento terapéutico que induzca, de forma no invasiva, la disminución de algunos aspectos patológicos en los trastornos de sueño (Salin-Pascual y col, 1990).

Por otro lado, la estimulación auditiva en la rata no sólo induce cambios sobre el SMOR, también produce un aumento en el SL y una disminución en la vigilia. Es probable que la inespecificidad de efecto observado se deba al corto intervalo de registro utilizado. Existe una tendencia a la disminución de la frecuencia de periodos SMOR estimulados auditivamente, a expensas de un aumento en el SL, a lo largo de ocho horas de registro en el gato (Drucker-Colin y col, 1990). Por lo tanto, se sugiere que

el aumento del SL y la disminución de la vigilia en el grupo EA son significativas, debido a que el registro fue interrumpido antes de que se presentara el reajuste observado en el ciclo vigilia-sueño, cuando se aplica la EA durante periodos mínimos de ocho horas de registro (Merchant-Nancy, 1990).

Asimismo, el grupo EA muestra un aumento en el tiempo de registro necesario para obtener los tres periodos de SMOR requeridos, comparado con el grupo control. Es posible que este fenómeno se deba también a que la frecuencia de los periodos de SMOR estimulados auditivamente tiende a disminuir durante ocho horas de registro (Drucker-Colin, y col, 1990), y al importante aumento en el SL observado en este grupo.

Los resultados muestran, además, que la duración media de los periodos de SMOR, así como el porcentaje de esta fase, aumenta de manera significativa, lo que ratifica estudios anteriores (Vogel, 1975). Asimismo, los resultados muestran que el intervalo de registro del grupo PS disminuye, indicando un decremento en la latencia al SMOR y un aumento en la frecuencia de esta fase, lo que también corrobora estudios previos (Dement y Coenen, 1970).

Por último, el análisis de los registros de sueño en el grupo SL no muestra un aumento significativo en el SL. Se sugiere que dicho fenómeno se debe a que en el grupo SL, tanto la vigilia como el SL tienden a aumentar simultáneamente, lo que impide que el incremento de cada una de estas dos fases sea significativo, aún cuando no se haya registrado SMOR.

INMUNOREACTIVIDAD AL Fos POR ESTRUCTURA

En el caso del análisis por estructura de la IF los resultados muestran que existen cambios heterogéneos, en una gran cantidad de núcleos del tallo cerebral, que dependen del grupo experimental. Estos cambios pueden ser divididos en:

- 1) Las estructuras que aumentaron el número de células IF en los grupos EA y PS como son los núcleos PPT, PB, SUBCD, SUBCV, TSOL y LDTG.
- 2) Las estructuras que mostraron una disminución en el grupo V como el LC, el RPAL, el RMAG y el RPON.
- 3) Las estructuras que no mostraron cambios en la IF como son los núcleos RO y RMED.
- 4) Las estructuras que simplemente no mostraron IF como la FRP y el núcleo Mc.

En relación al primer punto, se sugiere que las estructuras que muestran un aumento en el número de células IF en los grupos EA y PS, son estructuras que presentan una mayor activación postsináptica ligada a cascadas de segundos mensajeros. Es interesante señalar que estas estructuras contienen células REM-ON que, como se mencionó en la introducción, son neuronas que presentan una actividad fásica alta durante algunas conductas motoras de la vigilia, tienen una frecuencia de disparo baja durante el SL y presentan una actividad tónica alta a lo largo del SMOR (Sakai, 1988). Se ha demostrado que los núcleos colinérgicos PPT, LDTG y PB poseen neuronas REM-ON (El Mansari y col, 1989; Steriade y col, 1989; Saito y col, 1977). Además, los núcleos LDTG y PB tienen células PGO-ON, es decir, neuronas que disparan poco antes de la aparición de una espiga PGO (Steriade

y col, 1989; Sakai, 1980). Asimismo, se ha demostrado que en el núcleo SUBC existe una compleja interacción de células colinérgicas REM-ON involucradas en la atonía muscular (Sakai, 1980) y de neuronas REM-OFF noradrenérgicas, cuyo papel permisivo en la generación del SMOR ha sido ampliamente discutido (Sakai, 1985; Jones y Webster, 1988). Adicionalmente se ha indicado la presencia de neuronas REM-ON en el núcleo PCR que, además, están involucradas en la regulación de los cambios fásicos en la frecuencia respiratoria durante esta fase (Netick y col, 1977).

Dentro de este contexto, se ha demostrado que la lesión con ácido kainico del PPT y el LDTG produce una disminución en el SMOR, que es proporcional a el número de células colinérgicas destruidas (Webster y Jones, 1988). Además, la lesión con ácido kainico del SUBC produce MOR sin atonía y la microinyección de carbacol en el SUBC o en el PB produce un aumento significativo en el SMOR (Sakai, 1980; Lai y Siegel, 1990; Datta y col., 1991).

Los trabajos mencionados son evidencias de la participación de estos núcleos en la regulación del SMOR. Sin embargo, existe una excepción en este grupo de estructuras: el núcleo TSOL cuyo registro unitario mostró la presencia de células SL-ON, pero no de REM-ON (Eguchi y Satoh, 1980). Considerando que el número de neuronas registradas fue muy pequeño y que el TSOL tiene dimensiones muy amplias, no es difícil pensar que los resultados del estudio de Eguchi y Satoh (1980) sean parciales y que realmente existan células REM-ON en esta estructura. Esta hipótesis tiene apoyo en los estudios donde se observó que la

estimulación de aferentes vagales, que hacen relevo en el TSOL, induce un aumento significativo en la duración o la frecuencia del SMOR, dependiendo del paradigma de estimulación (Puizzilluot y col, 1976). Además, la deaferentación serotoninérgica del núcleo TSOL, con 5,7 hidroxitriptamina, produce un aumento en la cuota diaria de SMOR que se mantiene durante semanas (Nosjean y col, 1987).

Por otro lado, el hecho de que los núcleos PPT, TSOL y PB presenten, en los grupos EA y PS, diferencias drásticas en la densidad de neuronas IF por área de muestreo, posiblemente indica una participación más amplia de estas estructuras en la regulación del SMOR, en relación a la participación de los núcleos SUBC, LDTG Y PCR, donde las diferencias en densidad con respecto al control son moderadas. Los registros electrofisiológicos en el núcleo PRC muestran un número bajo de neuronas REM-ON en esta estructura, lo que confirma de cierta manera nuestros resultados (Netick y col, 1977; Sakai, 1988). Sin embargo, no hay evidencias de lo anterior en los otros 2 núcleos (SUBC y LDTG), por lo que una hipótesis alternativa podría ser la mayor capacidad de expresar c-fos en las neuronas del PPT, TSOL y PB, sin que realmente exista en estas estructuras un papel funcional más importante en la regulación del SMOR.

Por otro lado, las estructuras que mostraron una disminución significativa en el grupo V son estructuras monoaminérgicas que presentan células REM-OFF (Chu y Bloom, 1974; McGinty y Harper, 1977; Sakai y col, 1983). Es importante aclarar que no es posible observar una disminución en la IF como resultado de un decremento

en la actividad neuronal, pero lo que sí se puede determinar son las condiciones mínimas de expresión de c-fos en una estructura (Morgan y col, 1987; Morgan y Curran, 1990) . Por lo tanto, lo que se observa en el presente estudio son las condiciones basales mínimas de IF en el LC, RD, RPAL, RMAG y RPON, que corresponden al grupo V. En el caso de los demás grupos experimentales, la expresión de c-fos en estas estructuras no es significativamente diferente, lo cual indica que no existe un aumento en la IF en las estructuras con células REM OFF que se correlacione con el aumento del SMOR producido por la EA o la PS.

Resulta contradictorio que estructuras con células noradrenérgicas como el LC o serotoninérgicas como el RD, RMAG y RPON, cuya actividad se encuentra al máximo durante la vigilia, presenten las condiciones mínimas de expresión de c-fos en el grupo V, donde los animales fueron mantenidos prácticamente despiertos durante 48 horas. Este fenómeno puede ser explicado a la luz de dos evidencias independientes. Por un lado se ha sugerido que el sistema noradrenérgico tiende a perder su nivel de excitabilidad después de periodos largos de vigilia. Se ha demostrado en gatos privados de SMOR que la frecuencia de disparo de las neuronas del LC presenta una disminución proporcional al tiempo de privación, llegando al mínimo de actividad después de 48 hr (Mallick y col, 1989). Además, se ha observado una disminución en la respuesta a la estimulación noradrenérgica de las neuronas dorsolaterales de la transición pontomesencefálica, ligada a la privación de SMOR (Mallick y col, 1991). Por otro lado, es necesario mencionar que el estrés provocado por diversas manipulaciones induce un aumento en la expresión de c-fos

(Dragunow y Robertson, 1989), por lo tanto es probable que el estrés asociado a la privación de SMOR pueda inducir un aumento, moderado pero generalizado, en la IF cerebral en todos los grupos experimentales. Se propone que, por lo menos en el caso del LC, el estrés inducido por la privación de SMOR no tiene la capacidad de estimular la expresión de c-fos en el grupo V, debido a que el sistema noradrenérgico sufre una disminución en la capacidad de respuesta después de periodos prolongados de vigilia. Para que esta hipótesis sea válida es necesario determinar si la disminución de la reactividad, ligada a periodos largos de vigilia, es exclusiva del LC o también se aplica al sistema serotoninérgico del rafe, lo que explicaría los resultados de la IF en el RD, RMAG, RPAL y RPON.

Los núcleos RM y RO también poseen células serotoninérgicas REM-OFF (Trulson y col, 1984), sin embargo el análisis de la expresión de c-fos en estos núcleos no mostró cambios entre los grupos experimentales. El RMED y el RO no presentaron una disminución en la IF en el grupo V, como en los otros núcleos del rafe analizados debido, probablemente, a que los niveles de expresión de c-fos en estos dos núcleos son muy bajos. Esto último se fundamenta en los estudios en los que se ha determinado que es imposible observar cambios tan sutiles con la utilización de la IF como marcador de activación neuronal (Dragunow y Robertson, 1989).

Por otra parte, numerosos estudios de actividad unitaria, de estimulación eléctrica y farmacológica, y de 2-Desoxi-Glucosa (2DG) han demostrado el papel activo de la FRP y el núcleo Mc en

la regulación del SMOR (Hobson y col, 1975 y 1986; Sakai, 1980 y 1988; Steriade y col, 1984; Siegel y col, 1979; Ito y MacCarley, 1984; Lydic y col, 1991). Sin embargo, los resultados del análisis de la IF muestran que estas estructuras no tienen la capacidad de expresar c-fos. Se ha indicado que existen ciertas situaciones en las que la IF no refleja la activación funcional de vías neurales, debido a que hay neuronas que no tienen la capacidad de expresar c-fos, bajo ciertas condiciones de estimulación (Hunt y col, 1988; Dragunow y Roberson, 1989). Es probable que las condiciones experimentales usadas en el presente estudio no estimularan la expresión de c-fos, aún cuando las neuronas de la PRF y/o del Mc hubieran estado activas durante el experimento. Dentro de este contexto, cabe mencionar que la EA durante SMOR induce un aumento en la actividad neuronal del 24% de las células de la FRP registradas, lo que indica la participación de esta estructura pontina en el incremento del SMOR (Drucker-Colín y col, 1990). Es importante puntualizar que en todas las estructuras analizadas, los cambios en la IF de los grupos EA y PS son muy semejantes y están relacionados con el aumento del SMOR y no con otros factores ligados a la manipulación utilizada para incrementar la duración del SMOR. Esta afirmación encuentra soporte en dos hechos adicionales: 1) en el grupo EA no existen cambios en la IF de la vía auditiva con respecto a los demás grupos, sugiriendo que los cambios en la expresión del c-fos en este grupo son un efecto específico relacionado con el aumento del SMOR, y no con un proceso colateral ligado a la estimulación sensorial; 2) todos los grupos

experimentales fueron privados de sueño por el método del tanque, indicando que los cambios en la IF observados en el grupo PS están ligados al mecanismo de rebote de sueño y no al estrés producido por la privación selectiva del SMOR.

En un estudio reciente se demostró que la microinyección de carbacol en la FRP induce un aumento en el SMOR, que está relacionado con un aumento en la expresión de c-fos, en los núcleos LDTG, PPT y PB, semejante al observado en el presente estudio (Shiromani y col, 1992). Por lo tanto, este estudio también sugiere que la longitud de los periodos de SMOR depende del número de células activas en estructuras que presentan células REM-ON y no de la manipulación utilizada para incrementar esta fase. Sin embargo, en el estudio de Shiromani y col (1992), se demostró un aumento en la IF en la FRP ligado al aumento de SMOR, que es un fenómeno que como ya se discutió, no se observa en el presente estudio.

CONSIDERACIONES SOBRE EL MECANISMO NEUROFISIOLÓGICO DEL SMOR

En términos generales los resultados muestran:

- 1) El aumento en el SMOR inducido por la EA o la PS está relacionado con un incremento en el número de células IF, en aquellas estructuras del tallo cerebral que poseen células REM-ON.
- 2) Los núcleos monoaminérgicos que contienen células REM-OFF presentan cambios en la IF que no están relacionados con el aumento del SMOR sino, con la privación selectiva de SMOR en el grupo V, la cual induce una disminución en la reactividad de las estructuras monoaminérgicas.

En relación al primer punto, se ha sugerido que el incremento del SMOR depende de un nivel crítico de actividad neuronal, que es regulado por un aumento en la excitabilidad de varias estructuras del tallo cerebral. La aparición de periodos abortivos de SMOR (periodos muy breves de esta fase) en gatos a los que se les administró cloranfenicol, está relacionada con la falta del incremento gradual en la actividad neuronal de la FRP y FRM cuando se pasa de SL a un periodo de SMOR normal (Drucker-Colín, 1979). De manera inversa, se ha demostrado que el incremento en el SMOR inducido por EA, PS o por la administración de carbacol, se acompaña de un aumento en la frecuencia de disparo de las neuronas de la FRP (Drucker-Colín y col, 1990; Yamamoto y col, 1990), del PPT y el LDTG (Mallick y col, 1989) o del PB (Gilbert y Lydic, 1990). A partir de estos experimentos de actividad unitaria, se ha sugerido que el nivel de actividad neuronal en el tallo cerebral no se alcanza en periodos de SMOR abortivos, en cambio durante periodos de esta fase alargados por diversas manipulaciones, la actividad es aún más alta que en periodos MOR normales (Drucker-Colín y col, 1990). La expresión de c-fos en relación al aumento en el SMOR sugiere un elemento adicional en esta hipótesis: el aumento de células activas durante periodos MOR de duración prolongada. Esto implica que el SMOR posiblemente depende de un aumento en la excitabilidad de varias estructuras del tallo cerebral, que no sólo se traduce en un incremento de la actividad de las neuronas REM-ON, sino también en el reclutamiento de neuronas activas en el sistema.

El reclutamiento neuronal en el tallo cerebral, involucrado con la regulación del mecanismo de mantenimiento del SMOR, es un

fenómeno que puede ser explicado a partir de la existencia de un sistema distribuido autoexcitatorio. El sistema distribuido debe estar íntimamente conectado y formar circuitos reverberantes excitatorios, que aumenten el número de células activas, entre las estructuras que componen el sistema. Existen varias evidencias que apoyan esta idea. Por un lado, se han determinado conexiones mutuas entre los núcleos PPT y LDTG con: la FRP (Quattrochi y col, 1990;), los núcleos PB (Saper y Loewy, 1980) y SUBC (Sakai y col, 1979); entre la FRP con los núcleos Mc y PCR (Mitani y col, 1988); entre el núcleo TSOL y los núcleos Mc, PCR y PB (Ricardo y Tongju, 1978); y entre el núcleo Mc con los núcleos SUBC, PCR, PB, PPT y LDTG (Sakai y col, 1979). Por lo tanto los estudios neuroanatómicos, de marcaje retrogrado o anterogrado, indican que las estructuras REM-ON que presentan un aumento en la expresión de c-fos relacionado con el incremento del SMOR, se encuentran formando una red o sistema distribuido a lo largo del tallo cerebral. Por otro lado, se ha sugerido que las conexiones entre varios de estos núcleos forman circuitos excitatorios, como en el caso de los núcleos LDTG y PPT con la FRP (Greene y col, 1989), de la FRP con el Mc y el PCR (Mitani y col, 1988), y del SUBC con el Mc (Sakai, 1988). Sin embargo, es necesario comprobar de manera sistemática, con técnicas de microestimulación y registro electrofisiológico, que las conexiones entre todos estos núcleos sean excitatorias y estimulen el reclutamiento neuronal.

Como se mencionó en la introducción, no es posible observar una disminución en la expresión del proto-oncogen c-fos

relacionado a un decremento en la actividad neuronal (Morgan y col, 1987). En contraste, la ausencia de cambios en la IF en una estructura puede indicar dos cosas: que no se presentaron cambios en la actividad neuronal o que hubo una disminución en la actividad. Por lo tanto, el hecho de que la IF en los núcleos monoaminérgicos no esté relacionada con el aumento del SMOR inducido por la EA y la PS, corrobora los estudios electrofisiológicos en donde se sugiere el papel permisivo de las estructuras REM-OFF (el LC y el sistema del rafe) en la generación del SMOR (Hobson y col, 1975; McGinty y Harper, 1977; Cespuglio, 1990).

Los resultados del presente trabajo apoyan la existencia de un sistema activador, que depende de la actividad y del número de neuronas REM-ON, así como de un sistema permisivo que depende de la actividad de las neuronas REM-OFF. Estos resultados han sido parcialmente contemplados en el modelo de la interacción recíproca, que propone un mecanismo de comunicación entre estructuras antagónicas (activadoras y permisivas) para la generación del SMOR (Hobson y MacCarley, 1975; Hobson y col, 1986; MacCarley y Massaquoi, 1992). En breve este modelo postula que, la aparición de un periodo de SMOR depende del decremento de la actividad neuronal del LC, el RD y de otros núcleos monoaminérgicos. La disminución de la influencia monoaminérgica produce la desinhibición de la FRP, que recibe gran cantidad de fibras monoaminérgicas (Quattrochi y col, 1989). La FRP que es una estructura REM-ON glutamatérgica, forma un circuito excitatorio con los núcleos colinérgicos LDTG, PPT y consigo

misma, a través de colaterales autoexcitatorias; de tal forma que, cuando estas tres estructuras alcanzan el nivel de excitabilidad necesario el SMOR se presenta. Adicionalmente la activación del sistema glutamatérgico-colinérgico (Glu-Aco) induce un aumento en la actividad del sistema monoaminérgico. El sistema monoaminérgico produce, por un lado, una autoinhibición y por otro, una inhibición sobre el sistema activador Glu-Aco, que al llegar a determinado nivel marca el fin de un periodo de SMOR (Hobson y col, 1986; MacCarley y Massaquoi, 1992).

El modelo de la interacción recíproca es una aproximación teórica, que permite integrar mucha de la información recabada en la investigación sobre la neurofisiología del SMOR. Sin embargo, este modelo sólo contempla parte de las estructuras pontinas y mesencefálicas involucradas en el SMOR, como son el PPT el LDTG y la FRP. No se toma en cuenta al núcleo SUBC del puente, ni a las estructuras bulbares REM-ON que participan en el SMOR (Sakai, 1980 y 1988; Siegel y col, 1984).

UN NUEVO MODELO DE REGULACION DEL SMOR

En un intento de integrar estos antecedentes con los resultados del presente trabajo propongo un modelo de interacción entre dos sistemas distribuidos antagónicos. Por un lado, se considera un sistema permisivo, constituido por los núcleos del sistema del rafe (RPAL, RO, RMAG, RD; RPON y RM) y el LC, cuyas conexiones entre sí son autoinhibidoras. El sistema permisivo está íntimamente conectado con el sistema activador, que es el otro sistema distribuido de este modelo. El sistema activador está constituido por los núcleos Mc, PCR, TSOL, SUBC, FRP, PB,

LDTG, PPT. Considerando que el sistema permisivo inhibe al sistema activador, es necesario el decremento de la influencia monoaminérgica sobre el sistema activador para que se presente el SMOR. Una vez desinhibido, el sistema activador tiene la capacidad de autoexcitarse, lo cual no sólo implica un aumento en la actividad de las neuronas sino también el reclutamiento de células activas en las diferentes estructuras que conforman este sistema. Adicionalmente, el sistema activador tiene conexiones excitadoras con el sistema permisivo, de tal forma que, un periodo de SMOR termina cuando la interacción activador-permisivo llega a un nivel crítico.

La generación del SMOR depende del decremento en la actividad del sistema permisivo, pero el mantenimiento de esta fase depende del aumento en la excitabilidad de las estructuras del sistema activador, que permite el aumento en la actividad y el reclutamiento neuronal.

El modelo de la interacción entre sistemas distribuidos explica, entre otras cosas, el fenómeno de reclutamiento observado en el presente trabajo. Además, contempla una autoinhibición del sistema monoaminérgico en el tallo cerebral, lo cual explica por qué en el grupo V, después de 48 horas de privación selectiva de SMOR, existe una disminución en la reactividad del sistema monoaminérgico. Probablemente, la disminución en la capacidad de respuesta del sistema permisivo después de la privación, desempeña un papel importante en el rebote de sueño.

Por último, es fácil observar que el modelo de la

interacción de sistemas distribuidos pretende explicar al SMOR como un proceso multifactorial, regulado por gran cantidad de estructuras interconectadas en el tallo cerebral. Sin embargo, es necesario demostrar la interacción de los sistemas permisivo y activador, con otro tipo de técnicas que contemplen, en relación a la regulación del SMOR: las conexiones entre núcleos, los cambios en la actividad y excitabilidad de las estructuras, las propiedades intrínsecas de las neuronas, la participación de neurotransmisores y neuropéptidos en los dos sistemas, y la síntesis de proteínas de novo.

CONCLUSIONES

1) La estimulación auditiva aplicada durante SMOR es capaz de aumentar esta fase de sueño en la rata, así como en el gato y en el humano.

2) Existe una relación entre la duración del SMOR incrementada por la aplicación de estimulación auditiva o durante el rebote de SMOR, y el aumento en el número de neuronas que expresan Fos en los núcleos: Pedunculo Pontino, Laterodorsal Tegmental, Parabraquial Lateral, Subcoeruleus Dorsal y Ventral, y en el núcleo del tracto Solitario.

3) Los animales que son mantenidos durante largos periodos en vigilia, presentan el nivel basal mínimo de Inmunoreactividad a Fos (IP), asociado a una disminución en la capacidad de respuesta en los núcleos Locus Coeruleus, Rafe Dorsal, Rafe Pálido, Rafe Magnus y Rafe Pontis.

4) No existen cambios en la expresión de Fos en los núcleos monoaminérgicos del tallo cerebral, en relación al aumento del SMOR inducido por Estimulación Auditiva o durante el Rebote de Sueño.

Se sugiere que la duración del SMOR no sólo depende de la actividad de las neuronas REM-ON, sino también del número de células activas en una amplia red de estructuras del tallo cerebral, que probablemente interactuen entre sí para formar circuitos excitadores que provoquen el reclutamiento neuronal.

BIBLIOGRAFIA

1. Adelman, G. Encyclopedia of Neurosciences, 2, Birkhauser., Boston, 1987, p. 1450.
2. Arankowsky, S., Aguilar, R., Prospero, G., and Drucker-Colin, R. Rapid eye movement (REM) sleep and PGO spike density are increased by somatic stimulation. Brain Res. 400: 155-158, 1987.
3. Arankowsky, S., Garcia, G., Aguilar, R., and Drucker-Colin, R. REM sleep enhancement induced by sensory stimulation is reverted by kainic acid lesion of the pontine reticular formation. Brain Res. 494: 396-400, 1989.
4. Arankowsky, S., Prospero, G., Aguilar, R., and Drucker-Colin, R. Cholinergic reduction of REM sleep duration is reverted by auditory stimulation. Brain Res. 375: 377-380, 1986.
5. Arankowsky-Sandoval, G., Stone, W., and Gold, P. Enhancement of REM sleep with auditory stimulation in young and old rats. Brain Res. 589: 353-357, 1992.
6. Arnolds, D., Lopez-Da Silva, F., Kamp, A., and Aitink, W. Motor acts and firing of reticular neurons correlated with operantly reinforced hippocampus theta shifts. Brain Res. 85: 194-195, 1975.
7. Aronin, N., Sagar, S., and Sharp, F. Light regulates expression of a Fos-related protein in the rat SCN. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 5959-5962, 1990.
8. Aserinsky, E., and Kleitman, N. A motility cycle in sleeping infants as manifested by ocular and gross bodily activity. J. Appl. Physiol. 8: 11-18, 1955.
9. Baghdoyan, H., Lydic, C., Callaway, C., and Hobson, A. The carbachol-induced enhancement of desynchronized sleep signs is dose-dependent and antagonized by centrally administered atropine. Neuropsychopharmacol. 2: 67-79, 1989.
10. Baghdoyan, H., Rodrigo-Angulo, M., McCarley, R., and Hobson, A. Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following

- cholinergic stimulation of three brainstem regions. Brain Res. 306: 39-52, 1984.
11. Baghdoyan, H., Rodrigo-Angulo, M., McCarley, R., and Hobson, A. A neuroanatomical gradient in the pontine tegmentum for hte cholinceptive induction of desynchronized sleep signs. Brain Res. 414: 245-261,1987.
 12. Batini, C., Moruzzi, G., and Palestini, M. Persistent patterns of wakefulness in the pretrigeminal midpontine preparation. Science 128: 30-32, 1958.
 13. Batini, C., Moruzzi, G., and Palestini, M. Effects of complete pontine transections of the sleep-wakefulness rhythms: The midpontine pretrigeminal preparation. Arch. Ital. Biol. 97: 1-10,1959.
 14. Benoit, O., and Bloch, V. Seuil d'excitabilite reticulaire et sommeil profond chez le chat. J. Physiol. 52: 17-19,1960.
 15. Bloch, V., Hennevin, E., and Leconte, P. Interaction between post-trial reticular stimulation and subsequent paradoxical sleep in memory consolidation processes. En: R. Drucker-Colin and L. McGaugh (Eds.), Neurobiology of sleep and memory. Academic Press., Londres, 1977. pp. 255-272.
 16. Bonvallet, M., and Sigg, B. Etude electrophysiologique des afferences vagales au niveau de leur penetration dans le bulbe. J. Physiol. 50: 63-74, 1958.
 17. Borbely, A., Acherman, P., Trachsel, L., and Tobler, I. Sleep initiation and sleep intensity: interaction of homeostatic and circadia mechanisms. J. Biol. Rhythms 4: 149-160,1989.
 18. Borbely, A., and Tobler, I. Homeostatic and circadian principles in sleep regulation in the rat. En: D. McGinty, R. Drucker-Colin, A. Morrison and P. Parmeggiani (Eds.), Brain Mechanisms of sleep. Raven Press, New York, 1985. pp. 35-44.

19. Borbely, A., and Tobler, I. Endogenous sleep-promoting substances and sleep regulation. Physiol. Rev. 69: 1989,1989.
20. Bowker, R., and Morrison, A. The startle reflex and PGO spikes. Brain Res. 102: 185-190,1976.
21. Brooks, D., and Bizzi, E. Brain Stem electrical activity during deep sleep. Arch. Ital. Biol. 101: 648-665,1963.
22. Buendia, N., Goode, M., Sierra, G., and Segundo, J. Responsiveness and discrimination during sleep. Experientia 15: 208-209,1963.
23. Buzsaki, G., Bickford, R., Ponomareff, G., Thal, L., Mandel, R., and Gage, F. Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. J. Neurosci. 8: 4007-4026,1988.
24. Buzsaki, G., Leung, L., and Vanderwolf, C. Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat. Brain Res. Rev. 6: 139-171,1983.
25. Calvo, J., and Fernandez-Guardiola, A. Phasic activity of the basolateral amygdala, cingulate gyrus and hippocampus during REM sleep in the cat. Sleep. 7: 202-210,1984.
26. Campbell, S., and Tobler, I. Animal Sleep: A review of sleep duration across phylogeny. Neurosci.Biobehav.Rev. 3: 269-300,1984.
27. Cespuglio, R., Calvo, J., Musolino, R., and Valax, J. Activite phasic chez le rat. Physiol. Behav. 19: 589-597,1977.
28. Cespuglio, R., Chastrette, N., Prevaute, H., and Jouvett, M. Serotonin and hypnogenic factors: functional relationship for sleep induction. En: S. Inoue and J. Krueger (Eds.), Endogenous sleep factors. Academic Publishing bv., The Hague, 1990. pp. 87-98.
29. Cespuglio, R., Gomez, M., Faradji, H., and Jouvett, M. Alterations in the sleep-waking cycle induced by cooling of the locus coeruleus area. Electroencephal. Clin. Neurophysiol. 54: 570-578,1982.

30. Chalupa, L., Macadar, A., and Lindsley, D. Response plasticity of lateral geniculate plasticity of lateral geniculate neurons during and after pairing of auditory stimuli. Science. 190: 290-292,1975.
31. Chase, H., Enomoto, S., Nurakami, T., Nakamura, T., and Taire, M. Intracellular potential of medullary reticular neurons during sleep and wakefulness. Exp. Neurol. 71: 226-233,1981.
32. Chase, M., and Morales, R. The atonia and myoclonia of active (REM) sleep. Annu. Rev. Psychol. 41: 557-584,1990.
33. Chu, N., and Bloom, F. Activity patterns of catecholamine containing pontine neurons in the dorsolateral tegmentum of unrestrained cats. J. Neurobiol. 5: 527-544,1974.
34. Coenen, A., and Van Luijtelaar, E. Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. Physiol. Behav. 35: 501-504,1985.
35. Cohen, H., and Dement, W. Sleep changes in threshold to electroconvulsive shocks in rats after deprivation of paradoxical phase. Brain Res. 22: 421-422,1970.
36. Cole, A., Saffen, D., Baraban, J., and Worley, P. Rapid increase of an immediate-early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. Nature. 340: 474-476,1989.
37. Costin, A., and Hafemann, D. Relationship between oculomotor nucleus and lateral geniculate body monophasic waves. Experientia 26: 972-973,1970.
38. Curran, T., and Teich, N. Identification of a 39000 dalton protein in cells transformed by the FBJ murine osteosarcoma virus. Virology. 116: 221-235, 1982.
39. Dagnino, N., Favale, E., Loeb, C., and Manfredi, N. Sensory transmission in the geniculostriate system of the cat during natural sleep and arousal. J. Neurophysiol. 28: 443-456,1965.

40. Dement, W. Recent studies on the biological role of REM sleep. Am. J. Psychiat. 122: 404-408,1965.
41. Dement, W. The biological role of REM sleep. En: A. Kales (Ed.), Sleep: Physiology and Pathology. Lippincott, Philadelphia, 1969. pp. 245-265.
42. Denoyer, M., Sallanon, M., Buda, C., Kitahama, K., and Jouvet, M. Neurotoxic lesion of the mesencephalic reticular formation and /or the posterior hypothalamus does not alter waking in the cat. Brain Res. 539: 287-303,1991.
43. Dawson, J., Dement, W., Wagener, T., and Nobel, K. Rapid eye movement sleep deprivation: a central-neural change during wakefulness. Science. 156: 403-406,1967.
44. Doneshka, P. Electrophysiological studies into the changes of the phases of sleep after vibration and noise. Bull. Int. Physiol. 6: 83-88,1974.
45. Dragunow, M., and Faull, R. The use of c-fos as a marker in neuronal pathway tracing. J. Neurosci. Meth. 29: 261-265,1989.
46. Dragunow, M., and Robertson, H. Brain injury induces c-fos protein(s) in nerve and glial-like cells in adult mammalian brain. Brain Res. 455: 295-299, 1988.
47. Dreyfus-Brisac, C. Sleep ontogenesis in early human prematurity from 24-27 weeks of conceptional age. Develop. Psychobiol. 1: 162-169,1968.
48. Drucker-Colin, R., Arankowsky-Sandoval, G., Prospero-Garcia, O., Jimenez-Anguiano, A., and Mechant, N. H. The regulation of sleep: some considerations on the role of vasoactive intestinal peptide, acetylcholine and sensory modalities. En: M. Mancía and G. Marini (Eds.), The Diencephalon and Sleep. Raven Press., New York, 1990. pp. 313-330.
49. Drucker-Colin, R., Bernal-Pedraza, F., Fernandez-Cancino, F., and Oksenberg, A. Is vasoactive intestinal polypeptide (VIP) a sleep factor?. Peptides Fayetteville. 5: 837-840,1984.

50. Drucker-Colin, R., and Bernal-Pedraza, J. Kainic acid lesions of gigantocellular tegmental field (FTG) neurons do not abolish REM sleep. Brain Res. 272: 387-391, 1983.
51. Drucker-Colin, R., Bernal-Pedraza, J., Fernandez, C., and Morrison, A. Increasing PGO spike density by auditory stimulation increases the duration and decreases the latency of rapid eye movement (REM) sleep. Brain Res. 278: 308-312, 1983.
52. Drucker-Colin, R., Dreyfus, C., and Bernal, P. Differences in multiple unit activity discharge frequency during short and long REM sleep periods: Effects of protein inhibition. Behav. Neurol. Biol. 26: 123-127, 1979.
53. Drucker-Colin, R., Prospero, G., Arankowsky, S., and Peres, M. Gastropancreatic peptides and sensory stimuli as REM sleep factors. En: S. Inoue and D. Schneider-Hermert (Eds.), Sleep Peptides: Basic and clinical approaches. Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, 1988. pp. 73-94.
54. Drucker-Colin, R., and Prospero-Garcia, O. Neurophysiology of Sleep. En: M. Thorpy (Ed.), Hand Book of Sleep Disorders. Markell Dekker, New York, 1989. pp. 33-53.
55. Eguchi, K., and Satoh, T. Characterization of the neurons in the region of solitary tract nucleus during sleep. Physiol. Behav. 24: 99-104, 1980.
56. El Mansari, M., Sakai, K., and Jouvet, M. Unitary characteristics of presumptive cholinergic tegmental neurons during the sleep-waking cycle in freely moving cats. Exp Brain Res. 76: 519-529, 1989.
57. Emde, R., Awedberg, J., and Suziki, B. Human wakefulness and biological rhythms after birth. Arch. Gen Phychiat. 32: 780-783, 1975.
58. Evarts, E. Photically evoked responses in visual cortex of the cat during sleep with low voltage fasts EEG. J. Neurophysiol. 26: 229-248, 1963.
59. Feldman, M., and Cohen, B. Electrical activity in the lateral geniculate body of the alert monkey associated with eye movement. J. Neurophysiol. 31:

- 455-466,1968.
60. Fishbein, W.,and Gutwein, B. Paradoxical sleep and memory storage processes. Behav. Biol. 19: 425-464,1977.
61. Foote, S.,and Morrison, J. Annu. Rev. Neurosci. 10: 67-95,1987.
62. Franza, B., Raucher, F., Josephs, S.,and Curran, T. The Fos complex and Fos-related antigens recognize sequence elements that contain AP-1 sites. Science. 239: 1150-1153,1988.
63. Froment, J., Petitjean, F.,and Bertrand, N. Effects de l'injection intracerebrale de 5-6-hydroxytryptamine sur les monoamines cerebrales et les etats de sommeil du chat. Brain Res. 67: 405-410,1974.
64. Frommer, G.,and Galambos, R. Arousal effects on specific thalamo-cortical evoked responses. Fed. Proc. 23: 209-217,1964.
65. Gassel, M., Ghelarducci, B., Marchiafa, P.,and Pompeiano, O. Phasic changes in blood pressure and heart rate during rapid eye movement episodes of desynchronized sleep in unrestrained cats. Arch. Ital. Biol. 102: 530-544, 1964.
66. Gastaud, H.,and Bert, J. Electroencephalographic detections of sleep produced by repetitive sensory stimuli. En: G. Wostelhome and O. Connors (Eds.), Nature of Sleep. Chirchil Eds.,London.,1961. pp. 260-283.
67. Gilbert, A.,and Lydic, R. Parabrachial neuron discharge in the cat is altered during carbachol-induced REM-like state (Dcarb). Neurosc. Lett. 120: 241-244,1990.
68. Greenberg, M., Ziff, E.,and Greene, L. Stimulation of neuronal acetylcholine receptors induces rapid gene transcription. Nature 234: 80-83, 1986.
69. Groves, P., Wilson, C.,and Boyle, R. Brain stem pathway, cortical modulation and habituation of the acoustic startle response. Behav. Biol. 10: 391-418,1974.

70. Guilleminault, M., Eldridge, F., and Dement, W. Narcolepsy, insomnia and sleep apneas. Bull. Physiopathol. Res. 8: 1127-1138, 1974.
71. Hars, B., and Hennevin, E. Impairment of learning by cueing during post-learning slow-wave sleep in rats. Neurosci. Lett. 79: 290-294, 1987.
72. Hars, B., Hennevin, E., and Pasques, P. Improvement of learning by cueing during postlearning paradoxical sleep. Behav. Brain Res. 18: 241-250, 1985.
73. Hayward, M., Duman, R., and Nestler, E. Induction of the c-fos proto-oncogene during opiate withdrawal in the locus coeruleus and other regions of the rat brain. Brain Res. 495: 211-216, 1990.
74. Hennevin, E., and Laconte, P. Etude des relations entre le SP et les processus d'acquisition. Revue theorique. Physiol. Behav. 18: 307-319, 1977.
75. Hobson, A. L'activite electrique phasique du cortex et du thalamus au cours du sommeil desynchronise chez le chat. C. R. Soc. Biol. 158: 2131-2135, 1964.
76. Hobson, A., Lydic, R., and Baghdoyan, H. Evolving concepts of sleep cycle generation: From brain centers to neuronal populations. Behav. Brain Sci. 9: 371-448, 1986.
77. Hobson, A., McCarley, R., and Wyzinski, W. Sleep cycle oscillation: Reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. Science. 189: 55-58, 1975.
78. Hobson, A., and Steriade, M. Neuronal basis of behavioral state control. In: V. Mountcastle, F. Bloom and S. Geiger (Eds.), Handbook of Physiology. The Nervous System. Am. Physiol. Soc., Bethesda, Maryland., 1986. pp. 306-426.
79. Hobson, J., McCarley, R., Pivik, T., and Freedman, R. Selective firing by car pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. J. Neurophysiol. 37: 497-511, 1974.
80. Horne, J. Why we sleep. Oxford University Press, Oxford, 1988, p. 319.
81. Hunt, S., Pini, A., and Evans, G. Induction of c-fos like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. Nature 328: 432-434, 1987.

82. Huttenlocher, P. Effects of state of arousal on click responses in the mesencephalic reticular formation. Electroencephal. Clin. Neurophysiol. 12: 818-827,1960.
83. Ito, K., and McCarley, r. Alterations in membrane potential and excitability of cat medial reticular formation neurons during changes in naturally occurring sleep-wake states. Brain Res. 292: 169-175,1984.
84. Jones, B. Basic Mechanisms of Sleep-Wake states. En: J. Krieger, T. Roth and E. Dement (Eds.), Principles of Sleep Medicine. Saunders Ed., New York, 1989. pp. 121-138.
85. Jones, B., and Beaudet, A. Retrograde labeling of neurons in the brain stem following injections of H3choline into the forebrain of the rat. Exp. Brain Res. 65: 437-442,1987.
86. Jones, B., Harper, S., and Halaria, A. Effects of locus coeruleus lesions upon cerebral monoamine content, sleep-wakefulness states and the response to amphetamine in the cat. Brain Res. 124: 47-49,1976.
87. Jones, B., and Yang, T. The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anterograde and retrograde axonal transport in the rat. J. Comp. Neurol. 242: 56-62,1985a.
88. Jones, B., and Yang, T. The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anterograde and retrograde axonal transport in the rat. J. Comp. Neurol. 242: 56-92,1985b.
89. Jouvét, D., Vimont, P., Delorme, F., and Jouvét, M. Etude de la privation selective de la phase paradoxal de sommeil chez le chat. C.R. Soc. Biol. 158: 756-761,1964.
90. Jouvét, M. Recherches sur les structures nerveuses et les mecanismes responsab les des differents phases du sommeil physiologique. Arch. Ital. Biol. 100: 125-206,1962.

91. Jouvet, M., and Michel, F. Correlations electromyographiques du sommeil chez le chat decortique et mesencephalique chronique. R. Soc. Biol. (Paris). 153: 1024-1028, 1959.
92. Jouvet, M., and Moruzzi, G. Neurophysiology and Neurochemistry of sleep and wakefulness. Springer-Verlag., New York., 1972, p. 534.
93. Jouvet, M., and Renault, J. Insomnie persistante apres lesion des noyaux du rafe chez le chat. C.R.Soc.Biol. (Paris) 160: 1461-1465, 1966.
94. Kales, A., Wilson, T., and Jacobson, A. Measurements of all night sleep in normal elderly persons: effects of aging. J. Am Geriat. Soc. 15: 405-414, 1967.
95. Kaufman, L. Parachlorophenilalanine does not affect pontine-geniculate-occipital waves in rats despite significant effects on other sleep-waking parameters. Exp. Neurol. 80: 410-417, 1983.
96. Kievit, J., and Kuypers, H. Basal forebrain and hypothalamic connections to frontal and parietal cortex in Rhesus monkey. Science. 187: 660-662, 1975.
97. Kodama, T., Yuan-Yang, L., and Siegel, J. Enhancement of acetylcholine release during REM sleep in the caudomedial medulla as measured by in vivo microdialysis. Brain Res. 580: 348-350, 1992.
98. Komoda, Y., Ishikawa, M., Nagasaki, M., Iriki, K., Honda, S., and Inoue, A. Uridine, a sleep-promoting substance from brainstem of sleep deprived rats. Biomed.Res. Suppl. 4: 223-227, 1983.
99. Lai, Y., and Siegel, J. Medullary regions mediating atonia. J. Neurosci. 8: 4790-4796, 1988.
100. Lai, Y., and Siegel, J. Cardiovascular and muscle tone changes produced by microinjection of cholinergic and glutamatergic agonists in dorsolateral pons and medulla. Brain Res. 514: 27-36, 1990.
101. Langford, G., Meddis, R., and Pearson, A. Awakening latency from sleep for the acquisition of conditioned avoidance in the rat. Psychophysiol. 13: 675-

- 681,1974.
102. Lau, L., and Nathans, D. Expression of a set of grow-related immediate-early genes in BALB/c 3T3 cells: coordinate regulations with c-fos or c-myc. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84: 1182-1186,1987.
 103. Lin, J., Sakai, K., and Jouvet, M. Evidence for histaminergic arousal mechanisms in the hypothalamus of cats. Neuropharmacol. 27: 111-122.,1988.
 104. Lindsley, D., Schreiner, L., Knowles, W., and Magoun, H. Behavioral and EEG changes following chronic brain stem lesions in the cat. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 2: 483-487,1950.
 105. Lineberry, C., and Siegel, J. EEG synchronization, behavioral inhibitions, and mesencephalic unit effects produced by stimulation of orbital cortex, basal forebrain and caudate nucleus. Brain Res. 34: 143-147,1971.
 106. Loomis, A., Harvey, E., and Hobart, G. Further observations on the rhythms of the cerebral cortex during sleep. Science. 82: 198-200,1935.
 107. Lydic, R., Baghdoyan, H., Hibbard, E., Bonyak, M., DeJoseph, R., and Hawkins R. Regional brain glucose metabolism is altered during rapid eye movement sleep in cat : a preliminary study. J. Comp. Neurol. 304: 517-529,1991.
 108. McCormick, D. Cholinergic and noradrenergic modulation of thalamocortical processing. TINS. 12: 215-221,1989.
 109. Magnes, J., Moruzzi, G., and Pompeiano, O. Synchronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. Arch. Ital. Biol. 99: 33-39,1961.
 110. Maki, Y., Bos, T., Davis, C., Starbuck, M., and Vogt, P. Avian sarcoma virus 17 carries a new oncogene, jun. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 2848-2852, 1987.
 111. Mallick, B., Fahringer, H., Wu, F., and Siegel, J. REM sleep deprivation reduces auditory evoked inhibition of dorsolateral pontine neurons. Brain Res. 575: 112-116,1992.

112. Mallick, B., Siegel, J., and Fahringer, H. Changes in pontine unit activity with REM sleep deprivation. Brain Res. 515: 94-98, 1989.
113. Mallick, B., and Thakkar, M. Short-term REM sleep deprivation increases acetylcholinesterase activity in the medulla of rats. Neurosci. Lett. 130: 221-224, 1991.
114. Mark, J., Heiner, L., and Mandel, P. Norepinephrine turnover in brain and stress reactions in rats during paradoxical sleep deprivation. Life Sci. 8: 1085-1093, 1969.
115. McCarley, R., and Massaquoi, G. Neurobiological structure of the revised limit cycle reciprocal interaction model of REM cycle control. J. Sleep Res. 1: 132-137, 1992.
116. McCarley, R., Nelson, J., and Hobson, A. Ponto-Geniculate-Occipital (PGO) burst neurons: correlative evidence for neuronal generators of PGO waves. Science. 201: 269-272, 1978.
117. McGinty, D. Physiological equilibrium and control of the sleep states. En: D. McGinty, R. Drucker-Colin, A. Morrison and L. Parmeggiani (Eds.), Brain Mechanisms of Sleep. Raven Press, New York, 1985. pp. 361-384.
118. McGinty, D., and Drucker-Colin, R. Sleep mechanisms: Biology and control of REM sleep. Internat. Rev. Neurobiol. 23: 391-432, 1982.
119. McGinty, D., and Harper, R. 5HT containing neurons: Unit activity during sleep. Sleep Res. 1: 27-35, 1977.
120. Merchant-Nancy, H. Efectos de la estimulacion acustica durante el sueno MOR sobre el ciclo vigilia-sueno en el gato. Tesis de Licenciatura. Fac. Ciencias UNAM. : 73, 1990.
121. Michael, F., Jeannerod, M., Mouret, J., Rechtschaffen, A., and Jouvett, M. Sur les mecanismes de l'activite des peintes au niveau du systeme visuel au cours de la phase paradoxale du sommeil. Compt. Rend. Soc. Biol. 158: 103-106, 1964.

122. Mikiten, T., Niebyl, P., and Hendley, C. EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharges from the thalamus of the cat. Feder. Proc. 20: 327-331, 1961.
123. Mitani, A., Ito, K., Mitani, Y., and McCarley, R. Morphological and electrophysiological identification of gigantocellular tegmental field neurons with descending projections in the cat: I. Pons. J.Comp.Neurol. 268: 527-545, 1988.
124. Mitani, A., Keihachino, I., Mitani, Y., and MacCarley, R. Morphological and electrophysiological identification of gigantocellular tegmental field neurons with descending projections in the cat : II. Bulb. J. Comp. Neurol. 274: 371-386, 1988.
125. Monnier, M., Dudler, L., and Schoenenberger, F. Humoral transmission of sleep. VIII. Effects of the sleep factor delta on cerebral, motor and visceral activities. Pflugers. Arch. 345: 23-35, 1973.
126. Monnier, M., Kalberer, M., and Krupp, P. Functional antagonism between diffuse reticular and intralaminar recruiting projections in the medial thalamus. Exp. Neurol. 2: 271-276, 1960.
127. Monti, J. Effect of recurrent stimulation of the brain stem reticular formation on REM sleep in cats. Exp.Neurol. 28: 484-493, 1970.
128. Morden, B., Conner, R., Mitchell, G., Dement, W., and Levine, S. Effects of rapid eye movement (REM) sleep deprivation on shock-induced fighting. Physiol. Behav. 3: 425-429, 1968.
129. Morgan, J., and Curran, T. Role of ion flux in the control of c-fos expression. Nature 322: 552-555, 1986.
130. Morgan, J., and Curran, T. Stimulus-Transcription coupling in neurons: Role of cellular immediate-early genes. Trends Neurosci. 12: 459-462, 1989.
131. Morgan, J., and Curran, T. Stimulus-transcription coupling in the nervous system: Involvement of the inducible proto-oncogenes fos and jun. Annu. Rev.

Neurosci. 14: 421-451,1991.

132. Morrison, A., Mann, G., and Hendricks, J. The relationship of excessive exploratory behavior in wakefulness to paradoxical sleep without atonia. Sleep. 4: 247-257,1981.
133. Moruzzi, G., and Magoun, H. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 1: 455-473,1949.
134. Mouret, R., Jeannerod, M., and Jouvet, M. L'activite electrique du systeme visuel au cours de la phase paradoxale du sommeil chez le chat. J. Physiol. 55: 305-306,1963.
135. Mouze-Amady, H., Sockeel, P., and Leconte, P. Modification of REM sleep behavior by REMs contingent stimulation in man. Physiol. Behav. 37: 543-548, 1986.
136. Muller, R., Bravo, R., Burckhard, J., and T. C. u. r. r. a. n. Induction of c-fos gene and protein by growth factors precedes activation of c-myc. Nature. 312: 716-720,1984.
137. Nagasaki, H., Iriki, M., Uchizono, K., and Inoue, S. The presence of a sleep promoting material in the brain of deprived rats. Proc. Jpn. Acad. 50: 241-246,1974.
138. Naito, P., Paanau R., and Kollar, E. Psychophysiological changes after prolonged deprivation of sleep. Biol. Psychiat. 3: 309-320,1971.
139. Nauta, W. Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. J. Neurophysiol. 9: 285-316,1946.
140. Netick, A., Orem, J., and Dement, W. Neuronal activity specific to REM sleep and its relationship to breathing. Brain Res. 120: 197-207,1977.
141. Nosjean A., Arluison, M., and Laguzzi, R. Increase in paradoxical sleep after destruction of serotonergic innervation in the nucleus tractus solitarius of the rat. Neuroscience 23: 469-481,1987.

142. Obal, F., Sorry, G., Alföldi, P., Rubiosek, R., and Obal, J. Vasoactive Intestinal polypeptide promotes sleep without effects on cerebral brain temperature in rats at night. Neurosci. Lett. 64: 236-240, 1986.
143. Ogawa, Y., and Kawamura, H. Increase of multiple unit activity during slow wave sleep in the cat preoptic area. Brain Res. Bull. 20: 897-902, 1988.
144. Pappenheimer, J., Koski, V., Fencel, M., Karvosky, L., and Krueger, J. Extraction of sleep-promoting factor S from cerebrospinal fluid and from brain of sleep-deprived animals. J. Neurophysiol. 38: 1299-1311, 1975.
145. Parker, D., Rossman, L., Kripke, D., Hersman, J., and Gibson, W. Physiology and Sleep. Academic Press., New York, 1980, pp. 145-179.
146. Parmeggiani, P. Thermoregulation during REM sleep. Waking-Sleeping. 1: 123-132., 1977.
147. Parmeggiani, P. Physiology in Sleep. Academic Press., New York, 1980, pp. 97-143.
148. Paxinos, G., and Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press., New York, 1985.
149. Pearson, M., Gatter, K., Brodal, P., and Powell, T. The projection of basal nucleus of Meynert upon the neocortex in the Monkey.
150. Penaloza-Rojas, J., Elterman, M., and Olmos, N. Sleep induced by cortical stimulation. Exp. Neurol. 10: 140-151, 1964.
151. Phillipson, E., Kosar, L., Rebeck, A., and Murphy, F. Respiratory control and Sleep. Am. Res. Physiol. 115: 217-224, 1977.
152. Pompeiano, O. Reticular control of vestibular nuclei: Physiology and Pharmacology. Prog. Brain Res. 37: 601-644, 1972.
153. Pompeiano, O., and Swet, J. EEG and behavioural manifestations of sleep produced by cutaneous nerve stimulation in normal cats. Arch. Ital Biol. 100: 343-380, 1962.

154. Prospero-Garcia, O., Ott, T., and Drucker-Colin, R. Cerebroventricular infusion of cholecystokinin (CCK-8) restores REM sleep in parachlorophenilalanine (PCPA) pre-treated cats. Neurosci. Lett. 78: 205-210, 1987.
155. Puizillout, J., and Fouzt, A. Vagoortic nerves stimulation and REM sleep, evidence for a REM triggering and a REM maintenance factor. Brain Res. 111: 181-184, 1976.
156. Quattrochi, J., Mamelak, A., Madison, R., Macklis, J., and Holbon, A. Mapping neuronal inputs to REM sleep induction sites with carbachol-fluorecent microspheres. Science. 245: 984-986, 1989.
157. Ramm, P., and Frost, B. Cerebral and local cerebral metabolism in cat during slow wave and REM sleep. Brain Res. 365: 112-124, 1986.
158. Rampin, C., Cespuglio, N., Chastrette, N., and Jouvet, M. Immobilisation stress induces a paradoxical sleep rebound in rat. Neurosci. Lett. 126: 113-118, 1991.
159. Ricardo, J., and Koh, E. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. Brain Res. 153: 1-13, 1978.
160. Riou, F., Cespuglio, R., and Jouvet, M. Endogenous peptides and sleep in the rat. II the hypnogenic properties of vasoactive intestinal polipeptide. Neuropeptides 2: 265-277, 1982.
161. Roitback, A. Electrical phenomena in the cerebral cortex during the extinction of orientation and conditional reflexes. Electroencephal. Clin. Neurophysiol. 13: 91-100, 1960.
162. Sagar, S., and Sharp, F. Light induces a Fos-like nuclear antigen in retinal neurons. Mol. Brain Res. 48: 32-38, 1990.
163. Sagar, S., Sharp, F., and Curran, T. Expression of c-fos protein in Brain: Metabolic Mapping at the cellular level. Science 240: 1328-1331, 1988.

164. Saito, H., Sakai, K., and Jouvet, M. Discharge patterns of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. Brain Res. 134: 59-72, 1977.
165. Sakai, K. Some anatomical and physiological properties of pontomesencephalic tegmental neurons with special reference to the PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. En: A. Hobson and B. Brazier (Eds.), The reticular Formation Revisited. Raven Press., New York, 1980. pp. 427-477.
166. Sakai, K. Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. En: D. McGinty, R. Drucker-Colin, A. Morrison and L. Parmeggiani (Eds.), Brain Mechanisms of Sleep. Raven Press., New York, 1985. pp. 111-137.
167. Sakai, K. Executive mechanisms of paradoxical sleep. Arch. Ital. Biol. 126: 239-257, 1988.
168. Sakai, K., El Mansari, J., Lin, J., Zhang, G., and Vanni-Mercier, G. The posterior hypothalamus in the regulation of wakefulness and paradoxical sleep. En: M. Mancica and G. Marini (Eds.), the Diencephalon and Sleep. Raven Press., New York, 1990. pp. 171-198.
169. Sakai, K., and Jouvet, M. Brain stem PGO on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. Brain Res. 194: 500-505, 1980.
170. Sakai, K., Petitjean, F., and Jouvet, M. Effects of ponto-mesencephalic lesions and electrical stimulation upon PGO waves and EMPs in unanesthetized cats. Electroencephal. Clin. Neurophysiol. 41: 49-63, 1976.
171. Sakai, K., Sastre, P., Salvert, M., Touret, M., Tohyama, M., and Jouvet, M. Tegmentoreticular projections with special reference to the muscular atonia during paradoxical sleep in the cat: an HRP study. Brain Res. 176: 233-254, 1979.
172. Sakai, K., Vanni-Mercier, G., and Jouvet, M. Evidence for the presence of PS off neurons in the ventromedial oblongata of freely moving cats. Exp. Brain

Res. 49: 311-314,1983.

173. Salin-Pascual, R., Granados-Fuentes, D., De la Fuente, J., and Drucker-Colin R. Effects of auditory stimulation during REM sleep in healthy volunteers and depressed patients. Psychiatry Res. 38: 237-246,1991.
174. Sarper, C., and Loewy, A. Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. Brain Res. 197: 291-317,1980.
175. Sassin, J., Frantz, A., Wietzman, E., and Kapen, S. The secretion of prolactin in sleep. Science. 177: 1205-1207,1972.
176. Sassin, J., Parker, D., Mace, J., Gotlin, R., and Johnson, L. Neuroendocrinology of Sleep. Science. 165: 513-515.,1969.
177. Satinoff, E., Drucker-Colin, R., and Hernandez-Peon, R. Paleocortical excitability and sensory filtering during REM sleep deprivation. Physiol. Behav. 7: 103-106,1971.
178. Sharp, F., Gonzalez, M., Hisanaga, K., Mobley, W., and Sagar, S. Inductions of the c-fos gene product in rat forebrain following cortical lesions and NGF injections. Neurosci. Lett. 100: 117-122,1989.
179. Sharp, F., Gonzalez, M., Sharp, J., and Sagar, S. c-fos expression and C14 2 Deoxyglucose uptake in the caudal cerebellum of the rat during motor/sensory cortex stimulation. J.Comp. Neurol. 284: 621-636,1989.
180. Sheng, M., Dougan, S., McFadden, G., and Greenberg, M. Calcium and growth factor pathways of c-fos transcriptional activation require distinct upstream regulatory sequences. Mol.Cell Biol. 8: 2787-2796,1988.
181. Sheng, M., and Greenberg, M. The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. Neuron. 4: 477-485,1990.
182. Shiromani, P., Kilduff, T., Bloo, F., and McCarley, R. Fos-like immunoreactivity in dorsolateral pontine regions associated with REM sleep. Brain Res. 580: 351-357,1992.

183. Siegel, J. Behavioral functions of the reticular formation. Brain Res. Rev 1: 69-105,1979.
184. Siegel, J.,and Gordon, T. Paradoxical sleep deprivation in cat. Science. 148: 978-980,1965.
185. Siegel, J.,and McGinty, D. Pontine reticular formation neurons: Relationship of discharge to motor activity. Science 196: 678-680,1977.
186. Siegel, J., Nienhuis, R.,and Tomaszewsky, K. REM sleep sings rostral to chonic transections at the pontomedullary junction. Neurosci.Lett. 45: 241-246,1984.
187. Siegel, J.,and Rogawsky, M. A fuction for REM sleep: regulation of noradrenergic receptor sensitivity. Brain Res.Rev. 13: 213-233,1988.
188. Siegel, J., Wheeler, R.,and McGinty, D. Activity of medullary reticular formation neurons in the unrestrained cat during waking and sleep. Brain Res. 179: 49-60,1979.
189. Siegel, J. M. Pontomedullary interactions in the generation of REM sleep. En: D. McGinty, R. Drucker-Colin, A. Morrison and P. Parmeggiani (Eds.), Brain Mechanims of sleep. Raven Press,New York,1985. pp. 157-174.
190. Smith, C. Sleep states and learnig: areview of animal literature. Neurosci Biobehav.Rev. 9: 157-168,1985.
191. Soja, P., Morales, F., Baranyi, A.,and Chase, M. Effect of inhibitory amino acid antagonists on IPSPs induced in lumbar motoneurons upon stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis during active sleep. Brain Res. 423: 353-358,1987.
192. Steinbush, H. Serotonine-immunoreactive neurons and their projections in the CNS. En: A. Bjorklund, T. Hokfelt and M. Kuhar (Eds.), Hand Book of Chemical Neuroanatomy. Elsevier,Amsterdam,1984. pp. 68-125.

193. Steriade, M. Mechanisms underlying cortical activation: neuronal organization and properties of the midbrain reticular core and intralaminar thalamic nuclei. En: O. Pompeiano and A. Ajmone-Marsan (Eds.), Brain mechanisms and perceptual awareness. Raven Press, New York, 1981. pp. 327-377.
194. Steriade, M. Thalamocortical Systems: Inhibition at sleep onset and activation during dreaming sleep. En: M. Macia and G. Marini (Eds.), The Diencephalon and Sleep. Raven Press, New York, 1989a. pp. 231-247.
195. Steriade, M. Brain Electrical Activity and Sensory processing during waking and sleep states. En: M. Krieger, T. Roth and W. Dement (Eds.), Principles and Practice of Sleep Medicine. Saunders Comp., Londres, 1989b. pp. 86-103.
196. Steriade, M. Basic mechanisms of sleep generation. Neurol. 42: 9-18, 1992.
197. Steriade, M., and Deschenes, M. The thalamus as a neuronal oscillator. Brain Res. Rev. 8: 1-63, 1984.
198. Steriade, M., Domich, L., and Oakson, G. Reticularis Thalami neurons revisited: Activity changes during shifts in states of vigilance. J. Neurosci. 6: 68-81, 1986.
199. Steriade, M., Domich, L., and Oakson, G. The deafferented reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. J. Neurophysiol. 57: 260-273, 1987.
200. Steriade, M., and Llinas, R. The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. Physiol. Rev. 68: 649-742, 1988.
201. Steriade, M., Sakai, K., and Jouvet, M. Bulbo-Thalamic neurons related to thalamocortical activation processes during paradoxical sleep. Exp. Brain Res. 54: 463-475, 1984.
202. Sterman, M., and Clemente, C. Forebrain inhibitory mechanisms: Sleep patterns induced by basal forebrain stimulation in the behaving cat. Exp. Neurol. 6: 103-109, 1962.
203. Sullivan, C., Murphy, E., Kosar, F., and Phillipson, E. CO₂ pressure during sleep-wake cycle. J. Appl. Physiol. Resp. Environ. Exercise. Physiol. 47: 1304-

- 1310,1979.
204. Szymusiak, R.,and McGinty, D. Sleep suppression following kainic Acid-Induced lesions of the basal forebrain. Exp. Neurol. 94: 598-614,1986.
205. Szymusiak, R.,and McGinty, D. Sleep-waking discharge of basal forebrain projection neurons in cats. Brain Res. Bull. 22: 423-430,1989a.
206. Szymusiak, R.,and McGinty, D. State-dependent neurophysiology of the basal forebrain: Relationship to sleep, arousal and thermoregulatory function. En: M. Mancia and G. Marini (Eds.), The Diencephalon and Sleep. Raven Press. New York,1989b. pp. 111-124.
207. Szymusiak, R.,and Satinoff, E. Ambient temperature-dependence of sleep disturbances produced by basal forebrain damage in rats. Brain Res. Bull. 12: 295-305,1984.
208. Takeuchi, E. Polygraphic study of the wakefulness-sleep cycle of the rat. Jap. J. Psychol. 20: 19-26,1970.
209. Tauber, E. The physiology of sleep. En: E. Weitzman (Ed.), Advances in sleep research. Spectrum Pub.,New York,1974. pp. 133-172.
210. Thakkar, M.,and Mallick, M. Effect of REM sleep deprivation on rat brain acetylcholinesterase. Pharmacol. Biochem. Behav. 39: 211-214,1991.
211. Tobler, I. Evolution of the sleep process: A phylogenetic approach. En: A. Borbely and J. Valatx (Eds.), Sleep Mechanisms. Exp Brain Res Suppl. Springer,Munche,1984. pp. 207-226.
212. Trulson, M., Crisp, T.,and Trulson, V. Activity of serotonin-containing nucleus centralis superior (raphe medianus) neurons in freely moving cats. Exp. Brain Res. 54: 33-44,1984.
213. Ursin, R. PGO waves and insomnia in PCPA treated cats. Sleep Reg. 7: 88-90 1978.
214. Ursin, R.,and Sterman, M. A manual for standart scroning of sleep and waking states in the adult cat.,UCLA Pub. Serv.,Los Angeles Ca.,1981, p. 435.

215. Van Hulzen, H., and Coenen, M. The pendulum technique for paradoxical sleep deprivation in rats. Physiol. Behav. 25: 807-811, 1980.
216. Van Hulzen, Z., and Coenen, A. Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in rats. Physiol. Behav. 27: 741-744, 1981.
217. Vanderwolf, C., and Robinson, T. Reticulo-Cortical activity and behavior: A critique of the arousal theory and a new synthesis. Behav. Brain Sci. 4: 459-514, 1981.
218. Var der Kooy, D., Koda, K., and McGinty, J. The organization of projections from cortex, amygdala, and hypothalamus to the nucleus of the solitary tract. J. Comp. Neurol. 224: 1-27, 1984.
219. Vertes, R. Brainstem gigantocellular neurons: Patterns of activity during behavior and sleep in the freely moving rat. J. Neurophysiol. 42: 214-228, 1979.
220. Vertes, R. Brain stem generation of the hippocampal EEG. Progr. Neurobiol. 19: 159-186, 1982.
221. Vertes, R. Brain stem control events of REM sleep. Prog. Neurobiol. 22: 241-287, 1984.
222. Villablanca, J., Marcus, R., and Olmstead, C. Effects of caudate nuclei or frontal cortex ablations in cats. Exp. Neurol. 53: 31-37, 1976.
223. Vogel, G. A review of REM sleep deprivation. Arch. Gen. Psychiat. 32: 749-761, 1975.
224. Wagner, D., and Weitzman, E. Sleep endocrinology. Adv. Psychoneuroendocrinol. 3: 223-235, 1980.
225. Walsh, J., and Cordeau, J. Responsiveness in the visual system during various phases of sleep and waking. Exp. Neurol. 11: 80-103, 1965.
226. Webster, H., and Jones, B. Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-colinergic cell area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states. Brain Res. 458: 285-302, 1988.

227. Winson, J. Interspecies differences in the occurrence of theta. Behav. Biol
7: 479-487,1972.
228. Winters, W., Mori, K., Spooner, C., and Kado, R. Correlation of reticular
and cchclear multiple unit activity with auditory evoked responses during
wakefulness and sleep. Electroencephal. Clin. Neurophysiol. 23: 539-545,1967.
229. Wu, M., Suzuki, S., and Siegel, J. Anatomical distribution and response
patterns of reticular neurons active in relation to acoustic startle. Brain
Res. 457: 399-406,1988.
230. Yamamoto, K., Mamelak, A., Quattrochi, J., and Hobson, A. A cholinceptive
desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum:
spontaneous and drug-induced neuronal activity. Neurosci. 39: 295-304,1990.
231. Zepelin, H. Mammalian Sleep. En: A. Krieger, J. Roth and E. Dement (Eds.),
Principles and practice of sleep medicine. Sauders Ed., New York, 1989. pp. 30-
48.