



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE PSICOLOGIA

"INFLUENCIA INHIBITORIA DE LOS FENOMENOS FASICOS,
LOS POTENCIALES PONTO-GENICULO-OCCIPITALES DEL
SUEÑO CON MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS, SOBRE
LA EPILEPTOGENESIS Y LA EPILEPSIA YA ESTABLECIDA EN
EL LOBULO TEMPORAL DEL GATO"

T E S I S

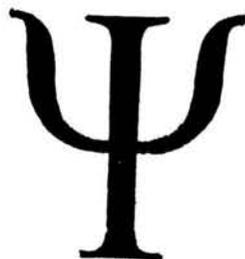
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

LICENCIADO EN PSICOLOGIA

P R E S E N T A :

IGNACIO RAMIREZ SALADO

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE MARIA CALVO Y OTALORA



MEXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta 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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

"INFLUENCIA INHIBITORIA DE LOS FENÓMENOS FÁSICOS, LOS POTENCIALES PONTO-GENICULO-OCCIPITALES DEL SUEÑO CON MOVIMIENTOS OCULARES RÁPIDOS, SOBRE LA EPILEPTOGÉNESIS Y LA EPILEPSIA YA ESTABLECIDA EN EL LÓBULO TEMPORAL DEL GATO"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA
P R E S E N T A:
IGNACIO RAMÍREZ SALADO

Sinodales: Dr. José María Calvo y Otálora. (Director)
Dr. Fructuoso Ayala Guerrero.
Lic. Ana Eugenia Díaz de León D Hers.
Dra. Ma. Asunción Corsi Cabrera.
Dra. Irma Yolanda del Rfo Portilla.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Ignacio Ramirez Salado

FECHA: 1-Jun-04

FIRMA:

MEXICO, D. F.

2004

DEDICATORIA

A mi padre por su gran paciencia, sus incomparables enseñanzas y por nunca dejarme solo.

A mi madre por su gran cariño y ternura, por su gran amor y sobre todo por ser mi amiga.

A mi hermano por estar siempre conmigo, por su nobleza y por su sinceridad.

Gracias a Ellos soy lo que soy.

A la memoria del

Dr. AUGUSTO FERNÁNDEZ GUARDIOLA

Por su gran sentido del humor, por su sabiduría, pero sobre todo por transmitirme el amor que se le debe tener a la Ciencia, gracias por ser un verdadero ejemplo de vida.

AGRADECIMIENTOS

Con todo respeto y admiración al Dr. José María Calvo, por su gran apoyo y dedicación, por transmitirme todos sus conocimientos, por aprender conmigo. Gracias por ser mi Maestro, en el sentido más estricto de la palabra. Pero sobre todo gracias por ser mi amigo, un autentico y verdadero amigo.

A mis abuelos Jesús y Natalia por el gran cariño que siempre me tuvieron, gracias por cuidarme siempre.

A Carlos Jiménez y Carlos Camacho, por enseñarme todo lo que saben, gracias por enseñarme a hacer bien las cosas. Gracias por su paciencia y por su ayuda en la realización de esta tesis. Además gracias por ser mis verdaderos amigos, por hacerme fácil y divertido el trabajo.

A Rodrigo Fernández, gracias por brindarme tu amistad. Gracias por el apoyo que siempre me has brindado, por las cosas que me has enseñado, y gracias por hacerme ver como se debe vivir la vida.

A David Martínez, Alejandro Valdez, Víctor Magdaleno, Bettina Klunkert, Bernardo Contreras, Adrián Martínez, Edith López, Germán Vega, Alejandro Rubio, Rafael Rubio, Alfredo Martínez, Raúl Cardoso y a Pilar Chiappa por ser mis amigos y por ser los mejores compañeros de trabajo.

A la Dra. María Corsi, Dra. Irma Yolanda del Río, Lic. Ana Eugenia Díaz de León y al Dr. Fructuoso Ayala por sus comentarios y sugerencias sobre esta tesis.

A Karina Simón por su amistad, su apoyo y sus enseñanzas.

A mis tíos Paco y Mali Rocha por el gran apoyo que siempre me brindaron, gracias por su cariño.

Gracias a Gerardo, por ser el mejor de todos los amigos, gracias por crecer juntos.

Gracias a mi tío Alberto Ramírez por su apoyo incondicional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por sus maestros, por mis amigos y por mi formación.

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Cronobiología de la División de Investigaciones en Neurociencias, del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (proyecto3340) y con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, proyecto29215-N).

INDICE

1	Resumen	1
2	Introducción	4
3	Mecanismos del Sueño	9
	Estado de vigilia	9
	Sueño de ondas lentas	10
	Sueño con movimientos oculares rápidos (MOR)	13
	Regulación colinérgica del sueño MOR	17
	Mecanismos corticales de desincronización EEG	18
	Atonía muscular	18
	Movimientos oculares	19
4	Potenciales ponto-geniculo-occipitales	20
	Generación pontina de los potenciales PGO	21
	Propagación de los potenciales PGO	24
	Regulación y control de los potenciales PGO	27
5	Sueño y Epilepsia	29
	Ocurrencia de las crisis epilépticas durante el sueño	
	A) En humanos	29
	B) En animales	32
	Privación de sueño y fenómenos epilépticos	
	A) En humanos	34
	B) En animales	35
	Efectos de las crisis epilépticas sobre el sueño	
	A) En humanos	36
	B) En animales	36
6	Fases del sueño en el gato	38
	Vigilia	38
	Sueño en ondas lentas	40
	Sueño MOR	42
7	Región Parabraquial (PBL)	43
8	Planteamiento del problema	45
9	Hipótesis	47

10	Material y Método	47
	Sujetos experimentales	47
	Material	48
	Procedimiento quirúrgico	49
	Registros poligráficos	51
	Administración tópica de carbacol	51
	Administración tópica de penicilina	52
	Análisis estadístico	53
11	Resultados	55
	Resultados cualitativos	
	Inducción de potenciales PGO	55
	Inducción de la epileptogénesis amigdalina	58
	Inducción de potenciales PGO, seguida de la aplicación del foco epileptógeno amigdalino	61
	Aplicación del foco epileptógeno amigdalino, seguida de la inducción de potenciales PGO	63
	Organización temporal del sueño	66
	Análisis histológico	68
	Resultados Cuantitativos	71
12	Discusión	82
13	Referencias bibliográficas	94

ABREVIACIONES

ACTH	Adrenocorticotrofina	MORs	Movimientos oculares rápidos
AMG	Amígdala del lóbulo temporal	NCF	Núcleo cuneiforme
BC	<i>Braquium conjunctivum</i>	NE	Norepinefrina
CCGs	Crisis convulsivas generalizadas	NRM	Núcleo reticular magnocelular
CGL	Cuerpo geniculado lateral	PBL	Región parabraquial
CM	Corteza motora	PBN	Núcleo parabraquial
CLIP	Péptido corticotrófico del lóbulo intermedio de la hipófisis	PCPA	Paraclorofenianilina
C-PBL	Parte caudal de la región parabraquial	PGO	Potencial ponto-geniculo-occipital
cps	Ciclos por segundo	PPT	Núcleo pedunculopontino tegmental
CV	Corteza visual	RD	Raphé dorsal
EEG	Electroencefalograma	R-PBL	Parte rostral de la región parabraquial
EMG	Electromiograma	RPC	Núcleo reticularis pontis caudalis
EOG	Electro-oculograma	RPO	Núcleo reticularis pontis oralis
Frnc	Formación reticular bulbar magnocelular	SOL	Sueño de ondas lentas
FTG	Campo tegmental gigantocelular	SFOL	Sueño fásico en ondas lentas
LC	<i>Locus coeruleus</i>	SNC	Sistema nervioso central
LDT	Núcleo laterodorsal del tegmento pontino	VIP	Péptido intestinal vasoactivo
MOR	Sueño con movimientos oculares rápidos	5-HT	Serotonina

RESUMEN

En estudios clínicos y experimentales se ha mostrado que existe una relación entre las diferentes fases del ciclo sueño-vigilia y los fenómenos epilépticos. Durante la fase del sueño con movimientos oculares rápidos (MOR), no ocurren las crisis convulsivas generalizadas (CCGs) y las descargas interictales se restringen al foco primario, y desaparecen o disminuyen, en comparación con las que se presentan durante el sueño de ondas lentas o el estado de vigilia.

Por otra parte, se ha descrito la aparición de signos poligráficos (atonía muscular, movimientos oculares rápidos y desincronización electroencefalográfica) semejantes a los del sueño MOR, hacia el final y durante unos segundos después de las crisis convulsivas. Estos fenómenos han permitido proponer, que los mecanismos responsables del sueño MOR son semejantes a los mecanismos para la detención de las CCGs. Además, se ha demostrado que las estructuras pontinas del tallo cerebral, relacionadas con los mecanismos generadores del sueño MOR, como la formación reticular y el *locus coeruleus*, pueden estar involucradas en la inhibición de la epilepsia. Sin embargo, no se ha analizado con precisión que componente electrofisiológico o neurohumoral del sueño MOR puede ejercer esta influencia inhibitoria sobre la epilepsia.

Los potenciales ponto-geniculo-occipitales (PGO), se presentan desde unos segundos antes del sueño MOR esta fase del sueño ha sido denominada sueño fásico en ondas lentas (SFOL) y cuando estos potenciales aumentan su incidencia, tiene lugar la instalación del sueño MOR. Este fenómeno ha permitido establecer un consenso de que los potenciales PGO son un componente central de los mecanismos de instalación y mantenimiento del sueño MOR. Por otra parte, en estudios experimentales se ha mostrado que la epileptogénesis inducida por el "*kindling*" amigdalino durante el sueño MOR, tiene un retraso significativo en comparación a su desarrollo durante la vigilia y se ha propuesto, que los potenciales PGO de esta fase del sueño, pueden jugar

un papel inhibitorio sobre la epileptogénesis y sobre la epilepsia.

Por otro lado, en el gato, se ha mostrado que la aplicación tópica de un agente colinérgico (Carbacol) en la región parabraquial (PBL) del tallo cerebral, induce con una latencia de 13 a 20 minutos, la aparición de potenciales PGO independiente de las fases del sueño, durante 20 a 24 horas. Asimismo, el carbacol provoca el aumento del número de episodios de sueño MOR, entre cuatro y cinco horas después de su aplicación. Es importante notar, que este hallazgo permite analizar de manera independiente, el probable papel inhibitorio de los potenciales PGO sobre la epilepsia, cuando éstos ocurren fuera del sueño MOR.

Por lo tanto el proposito de la presente tesis, fue analizar la influencia de estos potenciales inducidos por el Carbacol, sobre la epileptogénesis y la epilepsia ya establecida, inducidas por la aplicación tópica de Penicilina G Sódica en la amígdala del lóbulo temporal (AMG), en el gato.

En el protocolo experimental se incluyeron 9 gatos en preparación crónica, con electrodos para el registro poligráfico de sueño y con cánulas colocadas estereotáxicamente en la AMG y en la región PBL, para la aplicación de Penicilina G Sódica y Carbacol, respectivamente.

Los resultados mostraron que la presencia sostenida de potenciales PGO, independientes del sueño MOR, disminuye significativamente el número de crisis convulsivas generalizadas (CCGs) y la frecuencia de aparición de espigas epilépticas. Asimismo, estos potenciales PGO, acortaron significativamente la duración de los fenómenos epilépticos.

Además de estos resultados, se observó que la presencia de potenciales PGO sostenidos, evitó las alteraciones de la organización temporal del sueño, que se provocan con la aplicación del foco penicilínico. Asimismo, la latencia al sueño, el porcentaje y número de cada una de las fases del sueño, no se afectan cuando el foco penicilínico se acompaña de la aplicación de Carbacol en la región PBL. Más aún, los valores del número y porcentaje de los episodios de SFOL y sueño MOR, alcanzan valores significativamente mayores que los valores control.

Estos resultados apoyan la hipótesis de que los potenciales PGO ejercen una influencia inhibitoria significativa sobre la epileptogénesis y la epilepsia ya establecida. Asimismo, apoyan la hipótesis de que los mecanismos fisiológicos del sueño MOR, son semejantes a los mecanismos de inhibición de los fenómenos epilépticos.

INTRODUCCIÓN

La vigilia, el sueño de ondas lentas (SOL) y el sueño con movimientos oculares rápidos (MOR), son estados fisiológicos presentes en las aves, y en todos los mamíferos hasta ahora estudiados, incluyendo al hombre (Kleitman, 1963; Hassenberg, 1965; Jouvet, 1972; Aserinsky y Kleitman, 1953). En estas especies el ciclo sueño-vigilia, que consiste en la alternancia de los estados de vigilia y de sueño, depende de diferentes factores, por ejemplo, el ciclo luz-oscuridad, si son especies altriciales o precociales, si son predadores o presas, y en algunas ocasiones, de la estación del año.

El ciclo sueño vigilia, también cambia a través de la vida. En el curso de la ontogenia, las proporciones entre el estado de vigilia y los estados del sueño, así como la organización temporal de las fases de éste, tienen cambios importantes. Dichas proporciones y organización temporal en el recién nacido humano, son diferentes a las de un adulto, y a la vez a las de una persona anciana. El sueño MOR, tiene un mayor porcentaje en los primeros años de vida. La vigilia y el SOL incrementan progresivamente en porcentaje, alcanzando su valor máximo en la vejez.

Hay fenómenos del entorno que pueden afectar a este ciclo, particularmente, el ciclo luz-oscuridad, la temperatura del medio ambiente, y por otro lado puede haber condiciones internas, como cambios en el estado de ánimo, trastornos afectivos, ansiedad, estrés, o bien trastornos neurológicos de origen central, así como enfermedades que cursan con fiebre o dolor, además de la epilepsia.

El sueño es un estado fisiológico vital y necesario para el buen estado de salud mental. Si una persona es privada del sueño por varios días, comienza a tener progresivamente irritabilidad (Kleitman, 1963; Luby et al., 1960; Luby et al., 1962; Kollar et al., 1966; Dassnau et al., 1968), fallas de la atención (Kleitman, 1963), fallas de la memoria (Williams et al., 1966), déficit en la realización de tareas (Kleitman, 1923),

presenta conductas hiper-reactivas e ilusiones (Kollar et al., 1966; Kollar et al., 1968; Koella, 1967), alucinaciones (Kollar et al., 1969) y algunas personas llegan a presentar estados psicóticos (Wilkinson, 1969; Luby, 1962).

En animales experimentales se ha mostrado que la privación total del sueño provoca debilitamiento general, lesiones en la piel, hiper actividad, conductas agresivas, disminución del peso corporal, aumento del gasto energético, descenso de la temperatura corporal, y que todo esto puede concluir con la muerte del animal si este sigue siendo privado de sueño (Rechtschaffen et al., 1989).

El sueño es un proceso homeostático (endógeno), que promueve la liberación de hormonas, principalmente la hormona del crecimiento, cambios en la temperatura del cerebro (Arnulf et al., 1998; Denoyer et al., 1991), regeneración de sistema nervioso central y en la consolidación de la memoria.

Los primeros estudios sobre el sueño se basaron en análisis conductuales, de cambios posturales en sujetos sanos y el análisis de las ensoñaciones mediante el método introspectivo. Posteriormente, se analizaron los cambios en los fenómenos vegetativos que ocurrían durante el dormir, tales como la presión arterial, la temperatura corporal, la frecuencia cardiaca o el diámetro pupilar. Con el desarrollo del electroencefalograma (EEG), realizado por Berger en 1930, el estudio del sueño se centro en la búsqueda de correlaciones entre la conducta de dormir y la actividad eléctrica cerebral. Con la posibilidad de registrar la actividad eléctrica del sistema nervioso central (SNC), mediante el EEG se iniciaron numerosas investigaciones dirigidas al análisis de los ritmos electroencefalográficos durante los diferentes estados de conciencia, entre ellos, el dormir.

La primera observación importante fue que el sueño es un proceso múltiple, con diversas etapas, distintas en cuanto a su actividad eléctrica del cerebro, con cambios de frecuencia y voltaje, a partir de los cuales el sueño se clasifico en diferentes fases, según la porción de ritmos lentos EEG que se presentan en un tiempo dado (Loomis et al., 1937).

En 1953 Aserinsky y Kleitman observaron clínicamente en el niño que periódicamente movían los ojos con rapidez, sin abrirlos y que concomitantemente aparece una actividad EEG rápida y de bajo voltaje semejante a la que se encuentra al inicio del sueño o durante la vigilia. A esta fase de sueño la denominaron como sueño de movimientos oculares rápidos.

Al extender estas observaciones en sujetos adultos pudieron comprobar el carácter cíclico de estos periodos, que aparecen 4 o 5 veces durante la noche, alternando con las fases del SOL. Además, descubrieron que si se despierta a los sujetos durante esta fase con movimientos oculares rápidos (MORs), el sujeto era capaz de reportar lo que estaba soñando. Después de que Aserinsky y Kleitman descubrieron el sueño MOR en el ser humano, Dement en 1958 demostró que en los gatos tiene lugar una fase idéntica del sueño y más tarde Jouvett y Michel en 1959 describieron esta fase como sueño MOR en el gato.

A partir de estos hallazgos los estudios sobre el sueño, han tenido como principal objetivo delimitar las estructuras cerebrales que participan en la integración y regulación de cada una de las fases de éste, e identificar a través de que neurotransmisor o factor humoral pueden ser moduladas. Todo esto ha sido posible debido a los estudios en animales experimentales, en aves y mamíferos que presentan las diferentes etapas de sueño de ondas lentas (SOL) y episodios de sueño MOR (Jouvett, 1972).

El descubrimiento del sueño MOR permitió completar la clasificación de los estadios del sueño en humanos, en un comité internacional encabezado por Rechtschaffen y Kales (1968), se logró establecer un criterio común. Esta clasificación fue hecha a partir de la relación temporal que guardan los cambios del EEG, del electro-oculograma (EOG) y del electromiograma (EMG) durante el dormir.

A continuación se describen las fases del sueño en el hombre según la clasificación de dicho comité (Rechtschaffen y Kales, 1968):

VIGILIA. El EEG de un sujeto relajado y con los ojos cerrados, pero que aun se encuentra en estado de vigilia, muestra la presencia de ritmo alfa (8-13 cps.) En las

regiones parietooccipitales, que puede alternar con ritmos beta (14-26 cps.). El EOG puede o no mostrar movimientos oculares y la actividad EMG muestra la presencia de tono muscular con variaciones de alto voltaje.

SOL I. Cuando se inicia el sueño, el ritmo alfa desaparece y aparecen actividades esporádicas de 5-7 cps. (banda theta) de bajo voltaje, en un fondo de actividad beta. Los movimientos oculares son lentos y no conjugados y el tono muscular disminuye discretamente haciéndose regular.

SOL II. Después de unos minutos de iniciado el sueño, aparecen brotes de actividad fusiforme de amplio voltaje (14-16 cps.), denominados "husos de sueño" que alternan con actividad beta. También aparecen potenciales agudos de alto voltaje en la región del vertex, denominados puntas del vertex. Además comienzan a alternar brotes de actividad delta (0.5-2 cps.) de alto voltaje, que ocupa hasta un 20% de una "época" (una hoja de papel para registro EEG, que corre a velocidad de 15 mm/seg) del registro poligráfico. Concomitantemente el tono muscular disminuye. Aparecen también los complejos K.

SOL III. Esta fase del sueño se caracteriza por la presencia del ritmo delta que ocupa entre el 20 y el 50% de una época, y alterna con frecuencias rápidas, también pueden aparecer escasos husos del sueño y la relajación muscular aumenta.

SOL IV. Se caracteriza por actividad delta que se torna constante (mas del 50%) y se acompaña de una actividad muscular muy disminuida y de movimientos oculares lentos.

Actualmente las fases III y IV del sueño en ondas lentas se consideran como una sola, denominada sueño Delta.

SUEÑO MOR. Aproximadamente de 80 a 110 minutos de conciliado el sueño aparece el primer episodio de sueño MOR, que dura entre 15 y 20 minutos. Posteriormente el sueño MOR aparece a intervalos de 90 minutos y su duración aumenta progresivamente, pudiendo durar hasta 40 minutos. Se caracteriza por una actividad EEG rápida de bajo voltaje (beta), semejante a la observada en la fase I del SOL o durante el estado de vigilia (Klaue, 1937). El EOG muestra la aparición de MORs de manera aislada o bien, organizados en salvas de hasta 50 movimientos (Aserinsky y Kleitman, 1953). Hay atonía muscular en ocasiones interrumpida por breves contracciones fásicas que pueden coincidir con los movimientos oculares (Jouvet et al., 1959b).

El sueño MOR se acompaña de cambios electrofisiológicos, como la atonía muscular, movimientos oculares rápidos y conjugados y un EEG activado.

MECANISMOS DEL SUEÑO.

Estado de Vigilia

Los estudios iniciales sobre los mecanismos de los estados del sueño y la vigilia fueron llevados a cabo por Constantine Von Economo en 1918; cuando hubo una gran epidemia de "influenza" que invadió prácticamente todo el mundo, este virus infecta al cerebro y destruye a las neuronas, el síndrome neurológico que seguía a la infección cerebral por el virus se denominó "encefalitis letárgica" porque los sujetos afectados eran incapaces de mantenerse en estado de vigilia activa, que algunas veces llegó a ser irreversible. Constantine Von Economo descubrió que las células muertas se localizaban en las regiones subcorticales del cerebro, principalmente en el tallo cerebral, en el área llamada *substantia nigra*. El complemento de estas observaciones fue el trabajo de Frederic Bremer mediante el uso del EEG. Bremer registró el EEG en gatos, después de realizar un corte transversal completo del tallo cerebral superior y observó que los animales quedaban perpetuamente somnolientos y su EEG era típico de sueño. En su siguiente experimento dividió el tallo cerebral en un nivel inferior (entre la medula y la espina dorsal), y observó (en vez del sueño que él esperaba) signos conductuales y eléctricos del estado de alerta que alterna con estados de sueño, de manera espontánea (Bremer, 1935).

Más tarde, a fines de los años cuarenta, después de la segunda guerra mundial, un investigador llamado Moruzzi, viajó a Estados Unidos para continuar trabajos de investigación que no podía realizar en Europa, ahí colaboró con Horace Magoun. Al colocar electrodos en el tracto piramidal del tallo cerebral para estimular las células de la corteza motora, su interés era estudiar las funciones del sistema motor, sobre todo del sistema neuronal que vincula a la corteza, donde se generan los movimientos voluntarios, con las astas ventrales de la médula, de donde se originan los impulsos

nerviosos que activan a los músculos. Al cambiar el sitio de estimulación a la formación reticular del tallo cerebral, Moruzzi y Magoun encontraron que la actividad EEG de sueño cambia a un patrón EEG de vigilia. Este efecto se acompañó de un despertar conductual. Ambos efectos duraban más que la misma estimulación, lo cual indicaba que en el tallo cerebral había estructuras cuya activación podía producir simultáneamente un despertar EEG y conductual duradero. Moruzzi y Magoun establecieron que el principal sustrato morfológico para la generación y mantenimiento de la fase de vigilia era la formación reticular del tallo cerebral y lo denominaron como, sistema reticular activador ascendente (Moruzzi y Magoun, 1949).

En estudios posteriores se ha encontrado que los impulsos ascendentes del tallo cerebral hacia la corteza, para generar un EEG activado, pueden seguir una vía a través del tálamo o bien por una vía extratalámica a través del subtálamo y el prosencefalo basal (Jones, 1991). La ruta extratalámica para la activación del EEG, por el sistema reticular, es ventral al tálamo, a través del subtálamo, hipotálamo y prosencefalo basal. Al igual que en la vía dorsal a través del tálamo, las neuronas donde se origina la vía ventral se encuentran en el mesencéfalo y en el puente oral, o bien pueden situarse en el prosencefalo basal, como es el caso de las células colinérgicas de esta región, que inervan de manera difusa la corteza cerebral. Las células colinérgicas del prosencefalo basal reciben aferencias ascendentes desde algunas células colinérgicas, pero sobre todo desde células no colinérgicas de la formación reticular.

Sueño de Ondas Lentas

Pieron en 1913 realizó experimentos, en los cuales mantenía a perros despiertos, los perros eran sacados a pasear por las noches en las calles de París, además eran sujetos a la pared con un pequeño collar de manera que no pudieran relajarse para dormir. Este procedimiento suprimía del todo el sueño. La inyección del fluido cerebro espinal de perros privados de sueño en la cisterna magna de animales no privados de

sueño, inducía el sueño durante 2-6 horas después de la inyección. Pappenheimer et al., en 1967 realizaron una nueva investigación del fenómeno de Pieron. Ellos obtenían el fluido cerebral de cabras privadas de sueño a las cuales se les canalizaba el sistema ventricular y cuando este fluido lo inyectaban en el sistema ventricular de gatos y ratas, el fluido inducía signos clínicos de sueño, al menos por 18 horas, mientras que no había cambios conductuales en animales inyectados con fluido de cabras no privadas de sueño.

Mas tarde Jouvet y Renault (1996) reportaron que la destrucción total del sistema del *raphe*, desde la medula superior hasta la unión ponto-mesencefálica, era seguida por total hipersomnia durante 3 o 4 días.

El estudio clásico de los mecanismos neurofisiológicos del sueño, es el de Bremer 1935. Él observó la relación que existe entre las secciones transversales del tallo cerebral sobre el EEG cortical del gato. La sección total del tallo realizada al nivel de la unión mesodiencefálica, seccionando todas las aferencias de los nervios craneales, a excepción de los pares I y II y las eferencias motoras del cerebro, con excepción de las responsables de los movimientos oculares verticales, provoca signos EEG y vegetativos semejantes a los del sueño de ondas lentas. La actividad EEG lenta es permanente, con breves periodos de alertamiento que solo se logran por medio de una estimulación sensorial muy intensa. Bremer denominó a esta preparación cerebro aislado (del francés "*cerveau isolé*").

Con el fin de verificar la importancia de la formación reticular en el control del sueño, Bremer practico una sección total al nivel de la unión medular con el tallo cerebral. La sección en este nivel elimina toda la entrada somato-sensorial, dejando intactas las aferencias de los nervios craneales. Bremer denominó a esta preparación encéfalo aislado (del francés "*encephalé isolé*"), con la que mostró que cuando el EEG esta sincronizado, la estimulación sensorial produce el despertar electroencefalográfico y conductual de larga duración y dilatación pupilar. Asimismo, encontró que en ausencia de estímulos sensoriales, el animal presentaba periodos espontáneos y alternantes de despertar y sueño, similares a los que aparecen en el animal intacto.

El sueño de ondas lentas se caracteriza por la aparición de husos de sueño en el EEG. Éstos, consisten en una actividad sincronizada de 8 a 14 cps., de 1 a 2 segundos de duración, cuyo voltaje va aumentando gradualmente y luego disminuye dándole la forma característica de huso.

Por otra parte Hess (1944), exploró el tallo cerebral mediante estimulación eléctrica a bajas frecuencias para entender el control de funciones como la presión sanguínea, la respiración y el ritmo cardiaco, al mismo tiempo descubrió que la estimulación rítmica del tálamo, una estación de relevo del cerebro entre el tallo cerebral y la corteza, podía producir ondas lentas en el EEG y sueño conductual.

La estructura responsable de la aparición de los husos de sueño, es el núcleo reticular del tálamo. Esto ha podido comprobarse mediante, la lesión de este núcleo, la cual provoca la desaparición de los husos de sueño.

El núcleo reticular del tálamo, actúa como marcapasos, haciendo que los sistemas tálamo corticales oscilen a la frecuencia de 8 a 14 cps. (Steriade et al., 1990b; Steriade et al., 1984). Este fenómeno está apoyado por el hecho de que la actividad EEG a la frecuencia de los husos de sueño, puede registrarse en neuronas del núcleo reticular del tálamo, aisladas de sus aferencias talámicas y corticales (Steriade, 1987).

Además, las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular del tálamo son las que descargan de forma espontánea a la frecuencia de los husos de sueño. Esta descarga produce en los núcleos de relevo talámicos hiperpolarizaciones rítmicas. La hiperpolarización produce activación de una corriente de bajo umbral de calcio, que a su vez genera una espiga y una salva de potenciales de acción. Los núcleos talámicos paralaminares, transmiten hacia la capa I de la corteza esta actividad. La salva de potenciales de acción en la célula de relevo talámica excita las neuronas del núcleo reticular del tálamo y comienza de nuevo el ciclo (Steriade et al., 1993a; Steriade et al., 1993b).

Las estructuras facilitadoras del sueño de ondas lentas han sido encontradas en la parte caudal del tronco del encéfalo, la principal zona hipnogénica a este nivel es la región del tracto solitario, cuya estimulación eléctrica a baja frecuencia produce

sincronización en el EEG y conducta de sueño (Magnes , Moruzzi, y Pompeiano, 1961). La existencia de estructuras troncoencefálicas implicadas en la generación de SOL no se limita al bulbo raquídeo, sino que en el puente caudal también se han encontrado estructuras cuya lesión produce tanto disminución en la sincronización del EEG, como la aparición de vigilia.

La región preóptica situada en el cerebro anterior es otra zona directamente implicada en la generación de SOL. El área preóptica va desde el hipotálamo anterior hasta por delante del quiasma óptico, en esta área hay subpoblaciones de neuronas colinérgicas (mayor número) que disparan durante la vigilia y el sueño MOR y una población menor de neuronas gabaérgicas (25% del total) que aumentan su frecuencia de descarga durante la somnolencia y alcanzan su frecuencia máxima en el SOL (McGinty y Szymusiak, 1998; Gritti et al., 1998; Gallopin et al., 2000; Eggermann et al., 2001).

Sueño con movimientos oculares rápidos (MOR)

Además del descubrimiento del sueño MOR en el ser humano (Aserinsky y Kleitman 1953), se demostró que esta fase del sueño también aparece en el gato y varias especies de aves y mamíferos (Jouvet, 1965a). Este hallazgo ha permitido avanzar en el conocimiento sobre los mecanismos neurobiológicos responsables de la instalación y mantenimiento del sueño MOR, debido a que en animales experimentales, es posible explorar las regiones subcorticales y los cambios bioquímicos responsables de la generación de esta fase del sueño, en regiones específicas del cerebro.

El sueño MOR es un estado fisiológico regulado a largo plazo por neurotransmisores como la serotonina y la acetilcolina (Hernández Peón, 1965; Jouvet, 1972; Calvo et al., 1992), por neuropéptidos como el péptido intestinal vasoactivo (VIP), (Riou et al., 1982) y el péptido corticotrófico del lóbulo intermedio de la hipófisis (CLIP), (Cespuglio et al., 1995).

El sueño MOR alterna con episodios de sueño en ondas lentas (SOL), y siempre está precedido y acompañado por la aparición de potenciales ponto-geniculo-occipitales (PGOs). (Jouvet, 1967a; Thomas y Benoit, 1967).

Una red neuronal pontina ha sido postulada como la generadora del sueño MOR. La zona paramedial de tegmento pontino anterodorsal y el núcleo tegmental pontino, el cual juega un papel importante en la generación de los potenciales PGO, estos sitios han sido considerados como componentes importantes de dicha red neuronal para la inducción del sueño MOR (Sakai, 1979).

Debido a que los potenciales PGO siempre preceden el establecimiento del sueño MOR y que su frecuencia aumenta durante el sueño MOR, existe un consenso general de que los mecanismos generadores de las PGO, constituyen un componente clave para la generación y mantenimiento del sueño MOR (Jouvet, 1972; Jouvet, 1984; Callaway et al., 1987).

Los primeros intentos por describir los mecanismos neurofisiológicos del sueño MOR fueron realizados por Jouvet (1962). Con el fin de delimitar las zonas responsables de su generación, este autor realizó decorticaciones totales o parciales, secciones a diferentes niveles del tallo cerebral y lesiones talámicas en gatos.

Con la decorticación total o parcial, los animales continúan presentando el sueño MOR con una periodicidad normal, aunque no esta precedido por el SOL (Jouvet 1962).

Con las secciones del tallo cerebral para separar el cerebro del tallo (sección mesodiencefálica), el sueño MOR también aparece periódicamente. Por otro lado, la sección ponto-mecencefálica provoca una disminución en la frecuencia del sueño MOR aunque con una duración normal. En cambio, una sección al nivel de la parte posterior del núcleo *reticularis pontis caudalis* (RPC) suprime al sueño MOR (Jouvet, 1962; Jouvet, 1972).

Estos resultados mostraron que los mecanismos generadores del sueño MOR se encuentran en la región pontina del tallo cerebral. Posteriormente, con el fin de delimitar las estructuras de la región pontina involucradas en la generación del sueño MOR, Jouvet 1962, y Jouvet et al., 1963 llevó a cabo lesiones bilaterales del núcleo RPC

y demostró que esta lesión provoca la desaparición total de los fenómenos electroencefalográficos y periféricos característicos del sueño MOR. Mas tarde Jouvét (1965a y 1967a) encontró que la lesión bilateral, pero solamente de la parte medial del núcleo *reticularis pontis oralis* (RPO) y RPC, no provoca ningún efecto sobre la aparición del sueño MOR; mientras que la destrucción de la parte mediolateral y caudal o rostral de dichas estructuras suprime al sueño MOR.

Dada la heterogeneidad funcional y anatómica del tegmento pontino, pronto surgió el interés por determinar que zona y que neurotransmisores de éste serían los responsables de la aparición del sueño MOR.

Jouvét en 1965 con su teoría monoaminérgica propuso a la zona dorsolateral del puente como la región generadora del sueño MOR, concretamente a las neuronas noradrenérgicas del *locus coeruleus* (Jouvét, et al., 1965c; Jouvét y Delorme, 1965b). Por otra parte, se mostró que la acetilcolina está implicada en la generación del sueño MOR desde los trabajos pioneros de Hernández Peón (1965), con aplicación de cristales de acetilcolina en distintas regiones del encéfalo del gato. Esta hipótesis ha sido apoyada tanto por técnicas de registro unitario (Hobson et al., 1973; Hobson et al., 1974; Hobson et al., 1975), como por lesiones selectivas de la zona dorsolateral del puente (*locus coeruleus*), (Caballero et al., 1986). Dicha hipótesis también ha sido apoyada con experimentos de microestimulación colinérgica en el tronco del encéfalo.

Una de las características del sueño MOR es la pérdida de la actividad muscular (Jouvét, 1965a), particularmente de los músculos antigravitatorios, que se produce por un cese en la descarga de las motoneuronas que inervan a estos músculos. Este fenómeno se debe a una hiperpolarización sostenida de la membrana de las motoneuronas (Morales et al., 1987).

Intermitentemente pueden ocurrir despolarizaciones provocadas por un aumento de la actividad excitatoria descendente desde sistemas supraespinales, y entonces se producen las típicas sacudidas del sueño MOR.

La región crítica para la expresión de la atonía muscular durante el sueño MOR parece ser la parte dorsolateral del puente, mas concretamente los núcleos *locus*

coeruleus alfa y *perilocus coeruleus alfa* (Jouvet, 1965b; Sakai et al., 1977).

La lesión bilateral de estas estructuras en el gato produce la desaparición de la atonía durante el MOR, exhibiendo los animales una conducta motora, denominada actividad onírica del gato, y en donde los animales despliegan conductas de orden instintivo, permaneciendo con los ojos cerrados (Sastre y Jouvet, 1979).

Es de interés que el sistema motor muestra una gran activación, durante el sueño MOR pero su efector final, la motoneurona, esta inhibida. Las neuronas del puente dorsolateral actúan excitando a la formación reticular bulbar magnocelular (Frnc) a través del fascículo tegmento reticular lateral, que a su vez inhibe las motoneuronas espinales, a través de sus interneuronas (Sakai et al., 1977). De este modo las neuronas del núcleo *locus coeruleus alfa* y *perilocus coeruleus alfa* son neuronas ejecutoras, mientras que las neuronas de la formación reticular bulbar magnocelular son neuronas de relevo para transmitir la señal a la medula espinal. Por otra parte, la atonía es el evento del sueño MOR mas fácilmente observable tras la inyección de agonistas colinérgicos como el cloruro de carbamilcolina (Carbacol) en el puente.

Puesto que la liberación de acetilcolina aumenta en la corteza durante el sueño MOR, mientras que la noradrenalina y serotonina disminuyen (Hobson, 1990), la desincronización del EEG que caracteriza a este estado como tal, muy probablemente tenga su origen en las estructuras colinérgicas del istmo pontomesencefálico como el núcleo pedúnculo pontino tegmental (PPT) y el núcleo laterodorsal del tegmento pontino (LDT), que ejercen una acción inhibitoria sobre la actividad sincrónica del tálamo y por lo tanto, la desincronización cortical.

La formación reticular pontina medial es la estructura preculomotora encargada de activar a los núcleos del sexto par craneal para la génesis de los movimientos oculares conjugados, elemento característico del sueño MOR.

Regulación colinérgica del sueño MOR

La hipótesis de que la acetilcolina juega un papel importante en la instalación del sueño MOR fue propuesta por primera vez por Jouvet (1962) y Hernández Peón (1965). Actualmente la microestimulación colinérgica ha sido usada para activar poblaciones neuronales específicas en el tallo cerebral. Esto ha permitido la inducción de episodios de sueño MOR duraderos y con una menor latencia, mediante la microinyección de sustancias colinérgicas en una región delimitada en la zona paramedial del tegmento pontino anterodorsal (Vivaldi et al., 1980; Yamamoto et al., 1990a; Yamamoto, et al., 1990b)

Existen núcleos colinérgicos como el núcleo laterodorsal del tegmento pontino (LDT) y el núcleo pedúnculo pontino tegmental (PPT), en los cuales muchas de sus neuronas muestran aumentos de su actividad específicamente durante el sueño MOR (Datta et al., 1989; Sakai et al., 1990), además, las neuronas del LDT y del PPT proyectan fibras a los sitios reticulares pontinos más efectivos para la inducción del sueño MOR por la microinyección de carbacol, (Quatrochi et al., 1989). La estimulación eléctrica de los núcleos LDT y PPT producen liberación de acetilcolina en la formación reticular pontina medial. Además, los núcleos LDT y PPT, han sido identificados como parte de la red neuronal donde las PGOs son generadas (Sakai et al., 1990; Datta, 1994; Saito et al., 1977).

Lo anterior muestra que la instalación del sueño MOR es un fenómeno complejo, en el que intervienen tanto la acetilcolina, como neuropéptidos, tales como el VIP y CLIP. Es importante mencionar que aún queda por determinar la interacción entre dichas sustancias para un mejor entendimiento de la instalación y mantenimiento del sueño MOR.

Por otra parte, el sueño MOR se caracteriza por fenómenos electrofisiológicos que se clasifican por su ocurrencia temporal en dos tipos: los fenómenos tónicos y los fenómenos fásicos. Los fenómenos tónicos son aquellos que se presentan de manera

continua durante esta fase del sueño, tales como la activación EEG rápida, la atonía muscular y la actividad *theta* hipocámpica. Se definen como fenómenos fásicos, aquellos que se presentan en episodios que se repiten durante el sueño MOR y son los movimientos oculares rápidos (MORs), los potenciales PGO y las sacudidas musculares breves.

Mecanismos corticales de desincronización EEG

La actividad eléctrica rápida (20-30 cps) y de bajo voltaje se presenta en regiones diencefálicas, mesencefálicas y corticales. Esta actividad es semejante a la activación cortical que ocurre durante el estado de hiper-alerta o de atención. Se ha propuesto que la activación cortical durante el sueño MOR, se inicia en el núcleo RPC e involucra al núcleo RPO, ya que la lesión de esta región suprime dicha activación durante la vigilia y el sueño MOR (Jouvet, 1962). Existen vías ascendentes responsables de la desincronización EEG del sueño MOR, que cruzan difusamente por el tegmento mesencefálico a través de los núcleos RPC y RPO, que hacen relevo en los sistemas de proyección tálamo-corticales e hipotálamo-corticales para provocar la desincronización EEG (Sakai, 1985).

Atonía muscular

Jouvet y Delorme (1965b) demostraron que al lesionar la región caudal del LC y el tegmento pontino en el gato, desaparece la atonía muscular durante el sueño MOR. En estudios más recientes, se ha logrado delimitar con mayor precisión dos regiones del LC responsables de la atonía muscular: el *peri-LC-alfa* y la parte medial del *LC-alfa* en la región pontina, además se ha demostrado que también el núcleo reticular magnocelular (NRM) de la región bulbar del tallo cerebral está involucrado en este fenómeno. (Sakai, 1985; Sakai et al., 1986). Las neuronas pontinas son las generadoras

de la atonía y las bulbares son neuronas de relevo. Ambas regiones están comunicadas anatómicamente, a través del tracto lateral del tegmento reticular. A su vez, a través del tracto ventrolateral reticuloespinal las neuronas pontinas y bulbares, activan a las interneuronas del asta ventral de la médula espinal, las que inhiben a las motoneuronas para provocar la atonía muscular de los músculos antigravitatorios. Ambos grupos neuronales involucran mecanismos colinérgicos o colinoceptivos, en este fenómeno.

Movimientos oculares

Los MORs aparecen desde el inicio del sueño MOR de manera aislada o en salvas hasta de 50 movimientos, con una frecuencia de 60-70 movimientos por minuto. Es importante señalar que son diferentes a los que ocurren durante la vigilia, ya que los mecanismos que los generan, su distribución temporal y patrón de ocurrencia son diferentes (Mouret et. al., 1963). Los MORs, que ocurren durante el sueño MOR, son originados a nivel pontino y regulados de una manera compleja a nivel mesencefálico y del colículo superior (Valatx et al., 1964; Jeannerod, 1965; Perenin et al., 1971), regiones donde los procesos de integración cortical ejercen su efecto.

En estudios posteriores se han logrado identificar diferentes grupos neuronales de la región pontina, que son los responsables de la generación de los potenciales PGO.

Estos potenciales se propagan a los núcleos del VI, IV y III pares craneales, que forman el sistema oculomotor, para provocar los MORs (Cespuglio y Laurente, 1975; Cespuglio y Calvo, 1976).

POTENCIALES PONTO-GENÍCULO-OCCIPITALES

Estos potenciales bioeléctricos monofásicos, que aparecen de manera fásica durante el sueño MOR, con una amplitud de 300 μV y una duración de 150 milisegundos, fueron registrados por primera vez en la región pontina del tallo cerebral (Jouvet y Michel, et al. 1959a). Posteriormente, también fueron registrados en el CGL (Mikiten et. al., 1961) y en la corteza occipital (Mouret et. al., 1963). Debido a las regiones cerebrales donde inicialmente fueron registrados, se les denominó como, potenciales Ponto-Genículo-Occipitales (PGO) (Jeannerod, 1965).

En estudios posteriores se demostró que los potenciales PGO no aparecen aleatoriamente en la región pontina, el CGL y la corteza occipital, sino que se generan en la región pontina y se propagan hacia el CGL y corteza occipital (Bizzi y Brooks, 1963; Brooks y Bizzi 1963). Es importante destacar este hallazgo, pues dio origen a la investigación sobre la localización de las redes neuronales responsables de generar a los potenciales PGO, que a su vez, son fenómenos electrofisiológicos que forman parte de los mecanismos de instalación y mantenimiento del sueño MOR. Además, este hallazgo permitió identificar a dichas redes neuronales, como parte de los núcleos pontinos donde se integran diversas funciones autonómicas. Esta localización le confiere a los mecanismos generadores de los potenciales PGO, un carácter fisiológico de orden vital. Por otra parte, este hallazgo dio origen a numerosas investigaciones sobre la propagación de los potenciales PGO hacia diferentes regiones cerebrales.

Los potenciales PGO siempre preceden por 20 a 30 segundos la instalación del sueño MOR, cuando todavía hay una actividad lenta electroencefalográfica. A estos periodos de transición del sueño de ondas lentas al sueño MOR, se les denomina sueño fásico en ondas lentas (SFOL) (Thomas y Benoit, 1967). En estos periodos, los potenciales PGO comúnmente ocurren de manera aislada, denominándoseles potenciales simples y en ocasiones ocurren como potenciales dobles. Cuando

comienzan a ocurrir con una frecuencia mayor y organizados en salvas de tres o más potenciales, tiene lugar la instalación del sueño MOR. Este fenómeno ha permitido considerar a los mecanismos generadores de los potenciales PGO, como el componente central de los mecanismos de instalación y mantenimiento de esta fase del sueño.

Con el análisis de las características intrínsecas de los potenciales PGO, se ha encontrado que son una constante biológica, ya que su número de $13,000 \pm 1,500$ potenciales es igual cada 24 horas. Además, estos potenciales son regulados a largo plazo, ya que la privación de sueño MOR, que implica la privación de potenciales PGO es seguida del aumento de estos potenciales, recuperándose hasta el 95% de ellos en los siguientes dos días. En condiciones normales, durante el sueño MOR, ocurren como potenciales simples o dobles, organizados en salvas de tres, cuatro cinco, seis y hasta de 50 potenciales. Su amplitud puede variar entre 300 y 400 μV cuando son simples y cuando aparecen en salvas, su amplitud varía entre 150 y 250 μV (Mouret et al., 1968; Jouvet 1972).

Los potenciales PGO fueron descubiertos en el gato y más tarde, se demostró que también pueden ser registrados en la rata (Cespuglio et al., 1977) y en diferentes especies de monos (Balzamo, 1980). En el hombre, se ha logrado registrar potenciales electroencefalográficos equivalentes a los potenciales PGO (Miyachi et al., 1987) y recientemente, las imágenes cerebrales obtenidas mediante la tomografía por emisión de positrones, muestran el aumento de la actividad metabólica del CGL y la corteza occipital durante el sueño MOR (Peigneux et al., 2001).

Generación pontina de los potenciales PGO

A partir de lesiones electrolíticas, transecciones y estimulaciones eléctricas de diferentes áreas del tallo cerebral, se ha mostrado que el tegmento pontino es el sitio donde se generan los potenciales PGO. Las neuronas responsables de la generación de los potenciales PGO, están distribuidas en diferentes núcleos del tegmento caudal

mesencefálico y del tegmento rostral pontino. El área "x", la parte rostral del núcleo parabraquial lateral, el núcleo tegmental laterodorsal y la parte rostral del núcleo *locus coeruleus alfa*.

En estudios sobre la actividad unitaria neuronal, se ha mostrado que las neuronas tegmentales están involucradas en la generación de los potenciales PGO, pues solamente se activan en forma de salvas (3 a 5 potenciales) con una frecuencia entre de 600 y 800 cps., precediendo (5 a 25 msec) a cada potencial PGO registrado en el CGL. Estas neuronas reciben el nombre de neuronas "PGO-on." Este tipo de neuronas se localizan en el área "x", el LDT, en la parte rostral del *LC alfa* y en el PBL. Además, la estimulación eléctrica del CGL, y del núcleo centralis lateralis del tálamo producen una excitación antidrómica de estas neuronas PGO-on. La estimulación eléctrica de estructuras tegmentales dorsales que contienen células PGO-on, provoca la aparición de potenciales PGO en el CGL y en la corteza cerebral, mientras que la destrucción de estos elementos produce la abolición de los potenciales PGO tálamo-corticales (Sakai y Jouvet, 1980; Sakai, 1985).

En otra serie de estudios neurofisiológicos sobre la actividad neuronal de la región PBL, se ha mostrado que esta región contiene neuronas que están activas durante la vigilia, que disminuyen su frecuencia de descarga durante el SOL, llegando a su frecuencia más baja durante el sueño MOR, pero que además descargan en salvas de 600 a 800 cps., de 10 a 15 msec. antes de cada potencial PGO del CGL (Datta y Hobson, 1994; Datta, 1995).

También se ha mostrado que la lesión unilateral de la región PBL, mediante la aplicación tópica de ácido kainico, provoca la disminución significativa del número de potenciales PGO, particularmente en el CGL ipsilateral a la lesión, donde disminuyen hasta un (85%). En este estudio, también se encontró que la disminución de los potenciales PGO, no altera la tasa diaria de las diferentes fases del ciclo sueño-vigilia. (Datta y Hobson, 1995). Por lo tanto, los resultados de esta serie de estudios hacen evidente que la región PBL juega un papel exclusivo e importante, dentro de los mecanismos de generación de los potenciales PGO.

En la generación de los potenciales PGO, también participan algunos neurotransmisores que actuando sobre las regiones pontinas mencionadas, pueden inhibir o facilitar la ocurrencia de estos potenciales.

A partir de estudios neurofisiológicos y farmacológicos, se ha concluido que las monoaminas cerebrales inhiben la aparición de los potenciales PGO. Este fenómeno fue hecho evidente de la siguiente manera. Por una parte, la administración de reserpina, fármaco que disminuye tanto los niveles cerebrales de serotonina (5-HT) y norepinefrina (NE), induce la instalación y ocurrencia de potenciales PGO independientes de los estados del sueño, durante 24 horas (Matsumoto y Jouvet, 1964; Delorme et al., 1965; Brooks y Gershon, 1971; Brooks y Gershon, 1972). Este fenómeno también se ha mostrado con la depleción selectiva de 5-HT, mediante la aplicación de para-clorofenilalanina (PCPA) (Delorme et al., 1966; Ruch-Monachon et al., 1976). Por otra parte, la administración tópica de 6-hidroxi-dopamina (agonista monoaminérgico) (Matsumoto y Jouvet, 1964; Buguet et al., 1970) o de serotonina en el tegmento pontino (Horner et al., 1997), provoca la inhibición de los potenciales PGO. Asimismo, la (Luebke et al., 1992) administración sistémica de eltoprozina, un agonista serotoninérgico, disminuye significativamente el número de potenciales PGO (Quattrochi et al., 1992; Quattrochi et al., 1993). Además, en estudios *in vitro* con rebanadas del tallo cerebral, se ha mostrado que la perfusión de serotonina en el núcleo LDT, provoca la hiperpolarización de las neuronas PGO-ON (Luebke et al., 1992).

En otra serie de estudios experimentales se ha mostrado que el neurotransmisor, que por excelencia participa en la generación de los potenciales PGO, es la acetilcolina y que las neuronas colinérgicas ubicadas en el tegmento pontino, los núcleos LDT, PPT y en el núcleo lateral marginal de la región PBL, juegan un papel determinante (Henriksen et al., 1972; Jouvet, 1972; Shouse y Siegel, 1992; Steriade, 1992).

El papel de la acetilcolina en la generación de los potenciales PGO, también ha sido demostrado por la administración tópica de agonistas colinérgicos. La microinyección de carbamilcolina (Carbacol) en la región PBL, induce la instalación de potenciales PGO independientes de los estados del sueño durante 8 a 10 horas y además,

incrementa el número de estos potenciales que ocurren durante los episodios de SFOL y el sueño MOR, durante los siguientes 6 días a partir de su microinyección (Datta et al., 1991; Datta et al., 1992). Además, se ha logrado determinar que los receptores muscarínicos del tipo M2, son los que están involucrados en este fenómeno (Datta et al., 1993).

Propagación de los potenciales PGO

La propagación de los potenciales PGO hacia diversas regiones cerebrales y medulares, indica que estos potenciales provocan la activación fásica o intermitente, de circuitos y sistemas cerebrales encargados de funciones sensoriales, motoras, autonómicas y cognitivas (véase, (Jouvet, 1972; Callaway et al., 1987). Es de interés mencionar que la activación de estos sistemas por los potenciales PGO durante el sueño MOR, en ocasiones es de mayor intensidad que la provocada por los estímulos ambientales durante el estado de vigilia. Estos fenómenos han sido motivo de numerosas investigaciones sobre cuales son las regiones cerebrales activadas por los potenciales PGO, cual es el resultado de esta activación y que función tiene la activación fásica del cerebro durante el sueño MOR.

El descubrimiento inicial de la propagación de potenciales PGO hacia el cuerpo geniculado lateral y la corteza occipital (Bizzi y Brooks, 1963; Brooks y Bizzi, 1963), dio origen a estudios neurofisiológicos donde se logró delimitar las vías anatómicas y el modo de propagación de estos potenciales. Los potenciales PGO se propagan desde su origen pontino hacia el CGL, a través del fascículo longitudinal medio del cerebro anterior. Su propagación es predominantemente hacia el CGL ipsilateral y cuando se presentan en salvas de dos o más potenciales, también se propagan hacia el CGL contralateral, a través de las fibras de la comisura anterior (Laurente et al., 1974a).

Por otra parte, la activación fásica del sistema visual por los potenciales PGO, dio inicio a la búsqueda de la probable función de este fenómeno. El análisis de la actividad

neuronal del CGL durante la estimulación luminosa o eléctrica del quiasma óptico, mostró que los potenciales PGO bloquean el paso de la información aferente hacia la corteza visual. Este fenómeno a su vez implica la elevación del umbral al despertar, por impedir el paso de estímulos sensoriales aferentes. Por lo tanto, se ha propuesto que una función de los potenciales PGO es la de preservar el curso del sueño MOR (Laurente et al., 1974b; Laurente et al., 1977).

En otros estudios con gatos recién nacidos, se encontró que el bloqueo de la propagación de los potenciales PGO durante el crecimiento, deteriora el desarrollo anatómico y funcional del CGL. Cuando estos animales llegan a la edad adulta, las neuronas de sus CGLs no están organizadas en capas bien diferenciadas, su número y tamaño es menor que en los gatos testigo, y responden con una latencia mayor y frecuencia menor, a estímulos luminosos o eléctricos en el quiasma óptico (Davenne y Adrien, 1984; Davenne y Adrien, 1987; Davenne et al., 1989). Estos hallazgos apoyan sólidamente la hipótesis de que la activación fásica cerebral, debida a la propagación de los potenciales PGO, tiene una función importante en el desarrollo del sistema nervioso.

Otros investigadores han hecho evidente que además de propagarse al sistema visual, los potenciales PGO se propagan hacia diversos sistemas y regiones cerebrales. Estos potenciales también han sido registrados en el núcleo coclear y la corteza auditiva (Roffwarg et al., 1979). Es importante mencionar que en las regiones cerebrales donde no se registran potenciales de campo, semejantes a los PGO, el registro unitario de la actividad neuronal, muestra que el 75% de las neuronas corticales, presentan cambios en su frecuencia de descarga, que están directamente relacionados con la ocurrencia de los potenciales PGO (Callaway et al., 1987).

Por otro lado, la evidente relación entre la ocurrencia de los movimientos oculares rápidos del sueño MOR y los potenciales PGO, propició el estudio de las relaciones fisiológicas entre estos potenciales y el sistema oculomotor. Actualmente está demostrado que los potenciales PGO se propagan hacia los núcleos del VI, IV y III pares craneales, que dan origen a las fibras que inervan a los músculos intrínsecos de los

globos oculares. Cada potencial PGO que se propaga a estos núcleos, provoca la contracción contralateral y la inhibición ipsilateral de los músculos intrínsecos del ojo, dando como resultado movimientos conjugados de los ojos durante el sueño MOR (Cespuglio et al., 1975; Cespuglio et al., 1976).

Otro aspecto importante de los potenciales PGO, es su propagación hacia las astas ventrales de la médula espinal, para inducir y mantener la atonía muscular del sueño MOR. En estudios electrofisiológicos sobre la actividad de las motoneuronas, se ha encontrado que éstas presentan potenciales postsinápticos inhibitorios, que coinciden con la ocurrencia de los potenciales PGO durante el sueño MOR. También se ha demostrado que los potenciales postsinápticos inhibitorios, comienzan a presentarse desde los episodios de SFOL, que son transicionales entre el SOL y el sueño MOR, coincidiendo con los potenciales PGO que preceden a la instalación de esta fase del sueño (Chase y Morales, 1990; López-Rodríguez et al., 1992; Morales et al., 1987).

Además de los movimientos oculares, fenómenos visuales y auditivos, que suceden fásicamente durante el sueño MOR, las funciones autonómicas, también tienen variaciones fásicas (Baust et al., 1972; Orem, 1998; Orem, 1980; Dunin-Barkowski y Orem, 1998; Taylor et al., 1985). Asimismo, en cada episodio de sueño MOR se presentan diferentes tipos de emoción, reminiscencias personales variadas y fenómenos mentales ("alucinatorios") incoherentes e incongruentes (Hobson y Pace-Schott, 2002).

En el sistema límbico se integran funciones relacionadas con las emociones y los cambios vegetativos asociados a éstas, con los procesos de la memoria, y en condiciones patológicas, genera fenómenos alucinatorios. Estas propiedades del sistema límbico dieron origen al análisis de su actividad electrofisiológica durante el sueño MOR y su relación con la ocurrencia de los potenciales PGO. Los resultados de este análisis muestran que los potenciales PGO también se propagan hacia la amígdala del lóbulo temporal, el hipocampo dorsal y las regiones anterior y posterior del cíngulo. En estas estructuras se registran potenciales de campo, bifásicos y lentos (250 a 300 mseg), con latencias mayores a los potenciales PGO del CGL, que son de 25 mseg en el hipocampo, de 30 mseg en el cíngulo y de 40 mseg en la amígdala (Calvo y Fernández-Guardiola,

1984). El análisis de la actividad neuronal unitaria de los núcleos central, basal y basolateral de la amígdala, mostró que las neuronas amigdalinas alcanzan su máxima frecuencia cuando ocurren los potenciales PGO en el sueño MOR, siendo en el núcleo central el más representativo de este fenómeno (Calvo y Simón-Arceo, 1999).

Regulación y control de los potenciales PGO

El número y patrón de ocurrencia de los potenciales PGO son constantes biológicas reguladas por los núcleos pontinos que los generan y a su vez, otras regiones cerebrales pueden ejercer un control sobre ellas. Se ha mostrado que la estimulación eléctrica de los núcleos del rafe, del cerebelo y de la corteza frontal durante el sueño MOR, disminuye el número de los potenciales PGO (Simon et al., 1973) y la lesión o ablación de estas estructuras, facilita la ocurrencia de los potenciales PGO (Gadea-Ciria, 1972; Gadea-Ciria y Fuentes, 1976; Gadea-Ciria, 1976).

Dentro de los sistemas sensoriales, se ha demostrado que la vía visual y la auditiva, tienen un efecto facilitatorio sobre los potenciales PGO. La estimulación eléctrica del CGL aumenta el número de los potenciales PGO (Nelson et al., 1983). La estimulación auditiva durante el sueño MOR también incrementa el número de potenciales PGO (Drucker-Colin et al., 1983; Roffwarg et al., 1979; Sanford et al., 1992).

En relación con el sistema límbico, existen evidencias de que la amígdala del lóbulo temporal, juega un papel facilitatorio en la generación de los potenciales PGO. La estimulación eléctrica de la amígdala durante el sueño MOR, provoca el aumento significativo del número de potenciales PGO y además de provocar el aumento significativo de la amplitud, también provoca el aumento significativo del número de salvas de estos potenciales (Calvo et al., 1987). El control facilitatorio de la amígdala sobre los potenciales PGO, también se ha hecho evidente mediante la aplicación tópica de agentes colinomiméticos o de VIP en la amígdala. La microinyección de estas

substancias particularmente en el núcleo central amigdalino, induce el incremento significativo del número, número de salvas y de la amplitud de los potenciales PGO (Calvo et al., 1996; Calvo y Simón-Arceo, 1999; Simón-Arceo et al., 2003).

Los resultados obtenidos de los estudios mencionados, indican que los potenciales PGO son una constante biológica regulada a largo plazo, y que son generados por regiones pontinas donde se integran funciones vegetativas de orden vital. Por otro lado, existe un consenso general de que los mecanismos generadores de los potenciales PGO, son el componente central de los mecanismos de instalación y mantenimiento del sueño REM. Su ocurrencia precediendo a cada episodio de sueño REM y el hecho de que elevan el umbral al despertar, por impedir el paso de estímulos sensoriales, apoyan esta idea.

Un aspecto que indica la importancia de los potenciales PGO, es el activar fásicamente a prácticamente a todas las regiones cerebrales durante el sueño MOR, que a su vez es un estado fisiológico de activación cerebral, en ausencia de estímulos del medio ambiente. Al sueño MOR se le han propuesto diversas funciones, que no son excluyentes entre si, entre ellas está la función de participar en la consolidación de la memoria y la de preservar las funciones genéticamente determinadas, ya que las neuronas son células que no se reproducen y necesitan restablecer sus membranas, o bien, establecer nuevos contactos dendríticas. Para ello, las neuronas necesitan ser activadas, es probable que la activación fásica cerebral provocada por los potenciales PGO cumpla tal propósito. El hecho de que durante el sueño MOR haya un aumento de la síntesis proteínica, apoya estas funciones.

SUEÑO Y EPILEPSIA

En estudios clínicos y experimentales se ha establecido la existencia de una relación entre el sueño y la epilepsia. El estudio de esta relación ha involucrado tres aspectos: 1) la influencia de las diferentes fases del sueño sobre la ocurrencia de las crisis epilépticas focales o generalizadas; 2) el efecto de las crisis convulsivas focales o generalizadas sobre la organización del sueño y, 3) el efecto de la privación del sueño sobre la susceptibilidad a las crisis epilépticas.

Los resultados descritos hasta el presente señalan: a) que la fase del sueño de ondas lentas facilita la ocurrencia de crisis focales y generalizadas, mientras que la fase de sueño MOR inhibe las generalizadas pero pueden ocurrir las focales; b) que las crisis convulsivas generalizadas disminuyen el sueño, particularmente la fase de sueño MOR y c) que la privación de sueño facilita la ocurrencia de crisis y disminuye el umbral convulsivo.

La epilepsia es un síntoma de disfunción cerebral, de carácter recurrente, que se caracteriza por la descarga sostenida y anormalmente sincrónica de las neuronas. La etiología de las crisis epilépticas es variada, ya que pueden presentarse como complicación de accidentes infecciosos, traumáticos, tumorales, de alteraciones sistémicas como el lupus, de desórdenes metabólicos como la hipocalcemia o la hiponatremia, de toxicidad por fármacos o como síndrome hereditario. (Vinken y Bruyn, 1974).

El sueño y la epilepsia son dos fenómenos íntimamente relacionados: Este hecho se fundamenta en numerosas observaciones clínicas y experimentales, las que se describirán a continuación.

Ocurrencia de las crisis epilépticas durante el sueño.

A) En humanos.

Passouant (1982, 1984) refiere que Hipócrates describe la ocurrencia de "miedos, delirios, exaltaciones y crisis epilépticas" durante la noche. Echeverría en 1879 encontró que

las epilepsias nocturnas se presentan con más frecuencia en las mujeres que en los hombres. Feré en 1890 al estudiar durante un periodo de tres meses a epilépticos hospitalizados encontró que de 1895 crisis, la mayoría (1285) ocurrieron durante el dormir, entre las 8 pm. y las 8 am. Además, este autor describió ciertas anormalidades del sueño de los pacientes: dificultad para dormir (relacionada con ansiedad), sueño ligero (insuficiente) o lo contrario, hipersomnia (10-12 horas de sueño) y finalmente, la facilitación de las crisis en epilépticos de escaso dormir. Gowers en 1901 hizo énfasis en dos periodos para la ocurrencia de las crisis nocturnas: al inicio y al final del sueño, diferenciando las epilepsias diurnas de las nocturnas y éstas a su vez de las que pueden ocurrir indistintamente en el día o en la noche.

Años más tarde, Langdon-Down y Brian (1929) y Patry (1931) también describen una relación entre las crisis epilépticas y el ciclo sueño vigilia, clasificándolas en tres tipos: diurnas, nocturnas y difusas, de acuerdo con el momento del día en el que éstas ocurren. Posteriormente, Janz (1962) llevó a cabo un estudio muy completo sobre la influencia del ciclo sueño-vigilia en las epilepsias generalizadas y las clasificó en: a) las epilepsias de la vigilia que ocurren principalmente después de despertar o durante los periodos de relajación, b) las epilepsias del sueño que ocurren durante las horas del dormir, entre las 9 y 11 pm. y las 3 y 5 am. y c) las epilepsias difusas que son de carácter nocturno y diurno. Cuantitativamente encontró un mayor porcentaje de pacientes con ataques durante el sueño (45%), que de pacientes con epilepsia de la vigilia (34%) o con epilepsia difusa (21%).

La utilización del electroencefalograma y los estudios poligráficos durante el sueño, permitieron a otros investigadores complementar las observaciones clínicas. Se ha mostrado que el sueño de ondas lentas facilita las descargas paroxísticas focales así como las crisis generalizadas tónico clónicas. En cambio, el sueño MOR suprime las descargas generalizadas mientras que las descargas paroxísticas focales persisten y en ocasiones aumentan (Cadilhac et al., 1965; Gastaut et al., 1965). Besset (1982) señala que los pacientes con crisis generalizadas tipo gran mal y los pacientes con crisis parciales secundariamente generalizadas presentan un alto porcentaje de sus crisis durante el SOL, principalmente durante la fase II. También señala que los sujetos con crisis tipo gran mal no presentaron ninguna durante el sueño MOR, mientras que los otros pacientes presentaron dos crisis (8%)

de un total de 23 (100%) durante el sueño MOR. Con respecto a las descargas interictales, Rossi et al., (1984) reportan que este fenómeno epiléptico se incrementa durante la fase de SOL y vuelve al nivel observado en la vigilia, durante el sueño MOR. El incremento comienza al inicio del sueño y se hace más evidente durante las fases III y IV del SOL.

Los complejos K del SOL se pueden provocar con estímulos auditivos moderados y se consideran como respuestas de despertar. Las descargas paroxísticas EEG de pacientes con pequeño mal o epilepsia generalizada se han asociado a los complejos K del sueño. Estos complejos K, que aparecen en sujetos epilépticos, se han denominado "complejos K epilépticos" y se registran en la línea media de la región frontal (Niedemeyer, 1982). Por otra parte, existen similitudes entre las respuestas de reclutamiento talámico y los husos de sueño corticales. La estimulación de los núcleos intralaminares talámicos provoca respuestas de reclutamiento (Dempsey y Morison, 1942) y con la administración de dosis altas de penicilina, se provocan descargas onda espiga de 3 ciclos por segundo (Kostopoulos y Gloor, 1982). Esto llevó a dichos investigadores a proponer que las descargas onda espiga de 3 ciclos por segundo son la suma de potenciales postsinápticos excitatorios de neuronas corticales inducidos por los núcleos talámicos, que normalmente generan los husos de sueño y las respuestas de reclutamiento.

Las manifestaciones epilépticas que se presentan durante el sueño MOR son las crisis del lóbulo temporal que algunas veces son EEG y otras veces están asociadas con un componente motor. Los fenómenos fásicos del sueño MOR son suprimidos durante los paroxismos. Los movimientos oculares rápidos pueden preceder y reaparecer después de la descarga (Passoaunt, 1982; Passoaunt, 1984). Montplaisir et al., (1982) llevaron a cabo registros con electrodos de superficie y electrodos de profundidad en pacientes con epilepsia focal y encontraron que durante el SOL hay el incremento de la frecuencia de la actividad interictal y la propagación de ésta hacia otras áreas cerebrales. Durante el sueño MOR, la frecuencia de las descargas es semejante a la observada durante la vigilia, pero la actividad epiléptica se restringe al foco primario.

B) En animales.

Antes de describir los experimentos realizados en animales en los que se ha estudiado la influencia del sueño sobre la actividad epiléptica, se describirá el modelo experimental de epilepsia denominado "kindling" o encendido amigdalino. Es un modelo experimental de epilepsia que se produce por la aplicación repetida (cada 24 horas) de estímulos eléctricos breves (1 seg) y de baja intensidad (250 a 300 μ A), que provocan el desarrollo de crisis convulsivas focales que culminan en generalizadas. Estas crisis a su vez se acompañan de cambios conductuales y autonómicos característicos.

Goddard et al., en 1969 describieron por primera vez el fenómeno del kindling, proponiéndolo como un modelo experimental de epilepsia, de aprendizaje y de memoria. El término de kindling fue propuesto por Goddard para referirse a los cambios EEG y conductuales progresivos, que resultan de la estimulación eléctrica repetida de ciertas áreas cerebrales. Dicha estimulación provoca posdescargas que inicialmente son de corta duración, la amplitud de las espigas que las constituyen es baja y existe poca o ninguna propagación hacia otras regiones cerebrales. Asimismo, los cambios conductuales y autonómicos concomitantes con las posdescargas son discretos al inicio del kindling, pero con la repetición de los estímulos, se da el incremento progresivo en la intensidad de estas respuestas hasta culminar en crisis convulsivas generalizadas tónico clónicas.

En estudios realizados en animales, utilizando el kindling amigdalino, se ha encontrado que la frecuencia de espigas interictales se incrementa significativamente durante el SOL en comparación con la vigilia y que desaparecen durante el sueño MOR (Sato y Nakashima, 1975; Tanaka et al., 1975).

Cohen et al., en 1970 encontraron que el umbral para provocar crisis por electrochoque disminuye durante el SOL y aumenta durante el sueño MOR. También se ha reportado que el umbral para las crisis generalizadas en gatos sometidos al proceso del kindling del hipocampo, es más bajo durante el SOL que durante la vigilia o el sueño MOR (Sato y Nakashima, 1975; Rondouin et al., 1980).

En 1961, Fernández Guardiola et al. demostraron en gatos libres de movimiento que la estimulación de la formación reticular mesencefálica, impide el desarrollo de la actividad

convulsiva producida por la administración intravenosa de Metrazol. Mostrando por primera vez, que una estructura del tallo cerebral puede detener las crisis epilépticas.

Más tarde, Fernández Guardiola y Ayala en 1971 sugirieron que las estructuras meso-romboencefálicas juegan un papel inhibitorio sobre las convulsiones, aumentando su actividad hacia el final de éstas, para integrar un mecanismo de extinción de las crisis convulsivas generalizadas. Estos autores mostraron el aumento de la actividad del núcleo rojo, hacia el final y durante algunos segundos después de las crisis convulsivas, similar a la que ocurre durante el sueño MOR. Además de esta actividad rápida en el núcleo rojo y en la formación reticular que lo rodea, ellos describieron la depresión del tono muscular al final de las crisis convulsivas, así como la ocurrencia de MORs semejantes a los del sueño MOR. Ambos fenómenos, coinciden con la desincronización de la actividad de la corteza cerebral.

A partir del hecho de que aparecen signos periféricos y centrales similares a los del sueño MOR, los autores propusieron que los mecanismos generadores del MOR, son similares a los mecanismos de inhibición de la actividad convulsiva. Sin embargo, existen pocos estudios experimentales que apoyen esta hipótesis.

Calvo et al., en 1982 y 1991 con el propósito de analizar el desarrollo del kindling amigdalino y la probable influencia inhibitoria del sueño MOR en la generación, la propagación y la generalización de las crisis epilépticas, comparó el desarrollo del kindling amigdalino aplicando los estímulos durante una salva de potenciales PGO del sueño MOR con el desarrollo del kindling durante la vigilia, en gatos. Estos autores encontraron que en efecto, el sueño MOR ejerce una influencia inhibitoria sobre el kindling y que es mayor hacia las primeras etapas de este proceso. Mostraron que las posdescargas inducidas durante el sueño MOR, son significativamente más cortas y de menor amplitud, que las inducidas durante la vigilia. Asimismo, mostraron que se necesita un número de estímulos significativamente mayor para alcanzar las CCGs, que el número para alcanzarlas durante la vigilia.

También encontraron que la propagación de las posdescargas hacia la AMG contralateral y hacia regiones corticales, es significativamente más lenta, que las posdescargas inducidas durante la vigilia.

Debido a que los estímulos eléctricos amigdalinos fueron aplicados durante una salva de potenciales PGO, los autores propusieron que estos potenciales tienen un efecto inhibitorio sobre la epilepsia. Pero, esto nos ha sido explorado.

En la búsqueda de modelos experimentales que permiten el análisis de la epileptogénesis, Fernández Guardiola et al., (1991 y 1995) aplicaron tópicamente y de manera repetida, microinyecciones de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal. Encontraron que esta maniobra experimental, reproduce los fenómenos electrofisiológicos y conductuales provocados por el kindling, pero en el transcurso de un día.

Este foco penicilínico en la AMG remeda al kindling, y es dosis dependiente. Con este modelo también se provocan los cambios conductuales descritos por Wada y Sato (1974) para el kindling y que son: Fase I; guiño palpebral ipsilateral al sitio de estimulación, Fase II; guiño palpebral bilateral, movimientos masticatorios y retracción del cuello, Fase III; movimientos oscilatorios de la cabeza y fenómenos vegetativos (salivación y dilatación pupilar), Fase IV; flexión del cuello y marcha en círculos hacia el lado contralateral el sitio del foco epiléptico, con extensión tónica del miembro anterior contralateral, Fase V; incremento gradual de movimientos mioclónicos de los miembros anteriores y posteriores, sumados a los fenómenos antes descritos y Fase VI; crisis convulsivas generalizadas. tónico clónicas.

Fernández Guardiola et al., (1995), también encontró que la fase II del sueño facilita la ocurrencia de las espigas y que los potenciales PGO que preceden al sueño MOR coinciden con la disminución en la amplitud y frecuencia de las espigas amigdalinas. Durante el sueño MOR las salvas de potenciales PGO suprimen las espigas amigdalinas.

Aunque se conocen en gran medida las estructuras, los componentes electrofisiológicos y factores neurohumorales involucrados en el sueño MOR, no se ha investigado la probable participación de ellos en la inhibición de la actividad convulsiva.

Privación de sueño y fenómenos epilépticos.

A) En humanos

La privación de sueño, ya sea total o selectivamente del sueño MOR tiene un efecto facilitatorio sobre los fenómenos epilépticos y es utilizada como maniobra diagnóstica en los

estudios EEG de epilepsia.

Mediante la privación de sueño total es posible inducir descargas EEG epilépticas. Rodin et al., 1962 y Rodin, 1984 demostró que la privación total de sueño provoca la aparición de actividad paroxística difusa de alto voltaje en sujetos sanos. Estos paroxismos aumentan durante las primeras 48 horas de privación del sueño y subsecuentemente decrecientan conforme la privación aumenta, por lo que estos autores limitan las anormalidades EEG a las primeras horas de privación.

Bergonzi et al., (1972 y 1975) han investigado los efectos de la privación total de sueño o selectiva del sueño MOR, sobre las descargas epilépticas durante el sueño en pacientes con epilepsia generalizada y en pacientes con epilepsia parcial. Sus resultados muestran que la privación de sueño MOR incrementa las descargas tanto parciales como generalizadas, mientras que la privación de SOL solamente activa las descargas epilépticas parciales. Recientemente, Molaie y Cruz (1988) señalan que la privación de sueño durante 36 horas, en pacientes con epilepsia parcial compleja, incrementa de manera significativa el número de descargas interictales durante la fase II del SOL.

B) En animales

La privación de sueño en los animales provoca la disminución del umbral electroconvulsivo. Cohen y Dement (1965) encontraron que la privación del sueño MOR durante seis días, en ratas, disminuye significativamente el umbral para producir crisis por electrochoque. De la misma manera Owen y Bliss (1970) encontraron que la privación de sueño MOR, de 12 a 140 horas en la rata, disminuye el umbral a las crisis producidas por electrochoque. Este efecto se revierte cuando a los animales se les permite recuperar el sueño MOR perdido. Utilizando el modelo del kindling amigdalino para producir crisis, Shouse y Serman (1982) encuentran que la privación total de sueño durante 72 horas, con la técnica de la plataforma, reduce significativamente el umbral para provocar crisis generalizadas en gatos.

Todos estos estudios apoyan la idea de que el sueño MOR influye inhibitoriamente sobre la epilepsia.

Efectos de las crisis epilépticas sobre el sueño.

A) En humanos.

El efecto de las crisis sobre el sueño está relacionado con el tipo de crisis y con el estado de sueño o vigilia en el que ocurren.

Cuando las crisis ocurren durante el sueño, el efecto inmediato es un cambio de fase, ya sea hacia la vigilia o hacia una fase I o II del SOL. Las crisis generalizadas que ocurren al inicio o durante el sueño producen un decremento en el tiempo total de sueño (aproximadamente de una hora) y por lo tanto un incremento en la vigilia. El SOL no presenta grandes cambios a excepción de la fase II que se incrementa en un 20% y el sueño MOR se reduce en un 50%. La latencia al primer episodio de sueño MOR se alarga cuando la crisis ocurre en el primer ciclo de sueño y no se observa el fenómeno de recuperación o de "rebote" del sueño MOR (Besset, 1982; Baldy-Moulinier et al., 1984).

El efecto de las crisis del lóbulo temporal es de menor magnitud que el observado con las crisis generalizadas. La fase del sueño durante la cual ocurre la crisis puede seguir su curso o puede ser interrumpida temporalmente por un cambio de fase o por la vigilia. El sueño MOR disminuye solamente con la aparición de crisis multirrecurrentes durante el sueño. Sin embargo, la reducción del porcentaje del sueño MOR no es proporcional al número o a la duración de las crisis (Baldy-Moulinier, 1982; Baldy-Moulinier et al., 1984).

Se puede resumir que los cambios más frecuentes en el patrón del sueño de epilépticos consisten en un incremento de la vigilia e inestabilidad del sueño.

B) En animales.

Cohen y Dement (1966) mostraron un decremento del sueño MOR y una disminución de la frecuencia de los movimientos oculares rápidos de esta fase del sueño en el gato, al inducir crisis convulsivas generalizadas mediante el electrochoque. Estos mismos autores, describen que las crisis convulsivas inducidas por la administración intravenosa de metrazol disminuye el porcentaje de sueño MOR (Cohen y Dement, 1966). De la misma manera, la administración intravenosa de dosis convulsivantes de metrazol en babuinos, disminuye significativamente el porcentaje, el número y la duración media de los episodios de sueño

MOR, mientras que se alarga la latencia a esta fase del sueño. Las fases II y III del SOL también disminuyen significativamente. Estos decrementos en el SOL y en el sueño MOR hacen que el tiempo total de sueño disminuya y que el estado de la vigilia se incremente de manera significativa. Estas modificaciones en la organización del sueño desaparecen en los días en los que no se provocan CCGs, sin que se observe rebote alguno (Tanaka y Naquet, 1976; Naquet et al., 1984).

El status epiléptico límbico inducido en el mono babuino por la aplicación de ácido kainico en la AMG del lóbulo temporal, provoca un incremento significativo de la vigilia, una disminución del SOL I y II, y la abolición del SOL III y sueño MOR durante 48-72 horas. Después de este periodo se da una recuperación gradual del sueño en general y al quinto día no se encuentran diferencias significativas al compararlo con el registro control (Naquet et al., 1984). Utilizando este mismo modelo de crisis límbicas en el gato, Cepeda et al., (1986) también encuentran un incremento significativo de la vigilia, una disminución significativa del SOL y la abolición del sueño MOR durante 36-48 horas. Esta situación, de igual manera que en los monos, cambia gradualmente y al tercer día los valores del sueño son similares a los del registro control.

FASES DEL SUEÑO EN EL GATO

El gato es un mamífero que presenta de manera cíclica tanto los estados de vigilia y sueño, como los estados de sueño en ondas lentas y el sueño MOR. Además, es un animal en el cual se ha llevado a cabo la mayor parte de la investigación sobre los mecanismos neurobiológicos del sueño. Debido a que el presente estudio experimental fue realizado en el gato, a continuación se describen las propiedades poligráficas y los mecanismos del sueño en esta especie.

Las características poligráficas y el método para valorar la organización temporal del sueño en el gato, también han sido compilados en un manual para valorar el sueño de este animal (Ursin y Sterman, 1981).

Vigilia

Aspectos Conductuales.

En un animal despierto se pueden observar gran variedad de conductas, desde simples (reacción de orientación), hasta conductas elaboradas en respuesta a la estimulación ambiental. Por ejemplo, cuando está quieto, mantiene la cabeza levantada, lo que le permite responder rápidamente a los estímulos del medio ambiente: tiene los ojos abiertos, el diámetro pupilar variable de acuerdo con la naturaleza e intensidad de los estímulos que percibe, y la respiración es rápida e irregular (Ayala, 1976; Ayala, 1983).

Aspectos Poligráficos.

En el estado de alerta se aprecia una actividad electroencefalográfica, y subcortical con frecuencias rápidas (20 a 30 cps.) de bajo voltaje (20 a 30 μ V), y una actividad más lenta (5 a 7 cps.) en la porción rostral del hipocampo. Durante la vigilia atenta, el tono muscular es elevado y existe un gran número de movimientos oculares. Mientras que en la vigilia tranquila, la actividad cortical alcanza una frecuencia entre

5 y 8 cps.; y en las regiones subcorticales la actividad permanece elevada (Jouvet, 1967a; Jouvet, 1967b).

Cuando el animal se encuentra atento y mueve los ojos en función de la estimulación externa, se registra una actividad eléctrica fásica en el cuerpo geniculado lateral (CGL) y en la corteza occipital que recibe el nombre de "potenciales de movimiento ocular" (Brooks, 1968), y en la corteza occipital; es de destacar que dichos potenciales se presentan después del movimiento ocular y su amplitud depende de la velocidad del movimiento ocular, así como de la intensidad del estímulo luminoso (Jouvet, 1972). Ver figura 1.

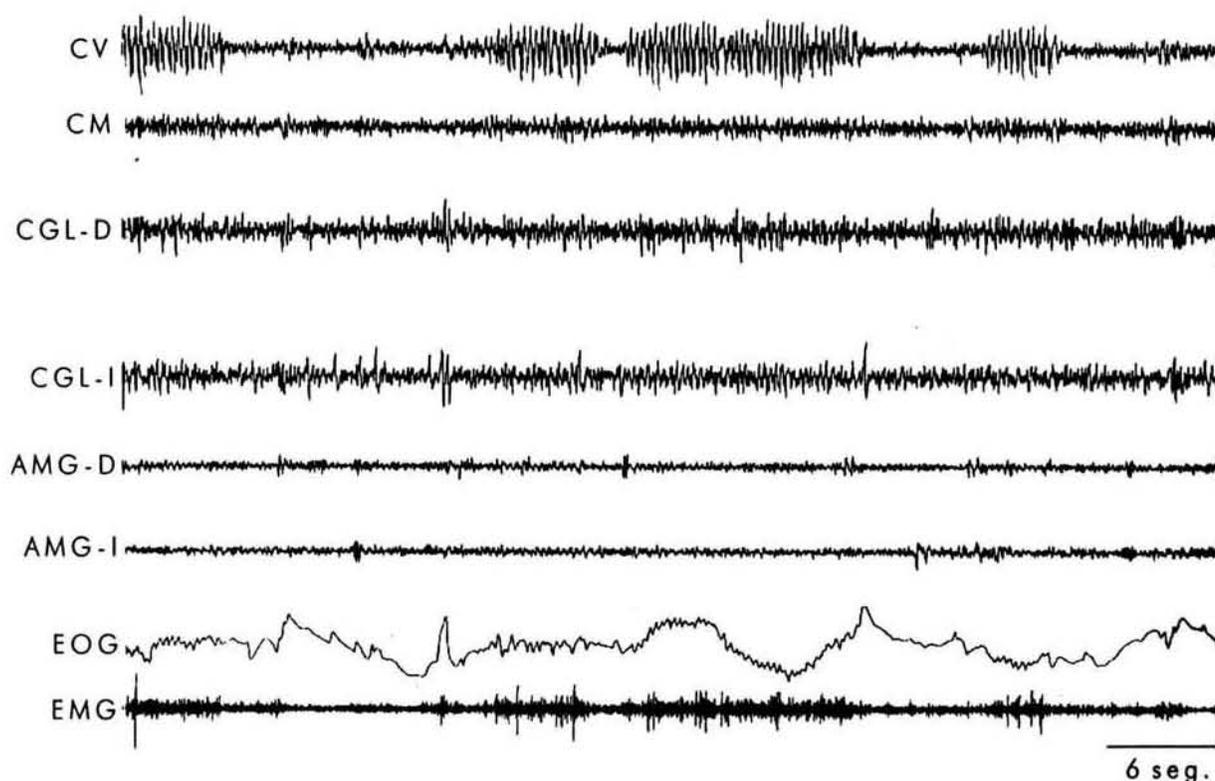


Figura 1. Trazo poligráfico del estado de vigilia. Nótese, la presencia de tono muscular, movimientos oculares y desincronización EEG. CV, corteza visual; CM, corteza motora; CGL, cuerpo geniculado lateral derecho e izquierdo; AMG, amígdala del lóbulo temporal derecha e izquierda; EOG, electro-oculograma; EMG, electromiograma.

Sueño en ondas lentas.

Aspectos conductuales.

Durante la fase SOL I, el gato adopta la posición de "esfinge", manteniendo inicialmente la cabeza erguida, dejandola caer progresivamente, y se presenta el cierre palpebral y la relajación de las membranas nictitantes. En la fase SOL II, el animal apoya la cabeza en sus patas anteriores y la actividad muscular disminuye progresivamente. Por otra parte, se aprecia la lentificación de la frecuencia respiratoria (Jouvet, 1967).

Aspectos poligráficos.

Electrofisiológicamente el SOL I, se caracteriza por la aparición de ondas lentas (3-4 cps) de alto voltaje mezclados con frecuencias rápidas (13-26 cps), además de una estabilización y disminución del tono muscular con relación a la vigilia. Ver figura 2.

La fase SOL II, se caracteriza por la aparición de la actividad Delta (0.5-4 cps) sostenida y de alto voltaje, que en ocasiones alterna con la aparición de husos de sueño (15-16 cps). (Figura 3). Después de algunos minutos de iniciada esta fase del sueño, comienzan a aparecer los potenciales ponto-geniculo-occipitales (PGO), que siempre preceden al sueño MOR (20 a 30 segundos). A estos periodos de transición entre el SOL y el sueño MOR, se les ha denominado sueño fásico en ondas lentas SFOL, del francés *sommeil phasique a ondes lentes*, Thomas y Benoit, 1967. (Figura 4)

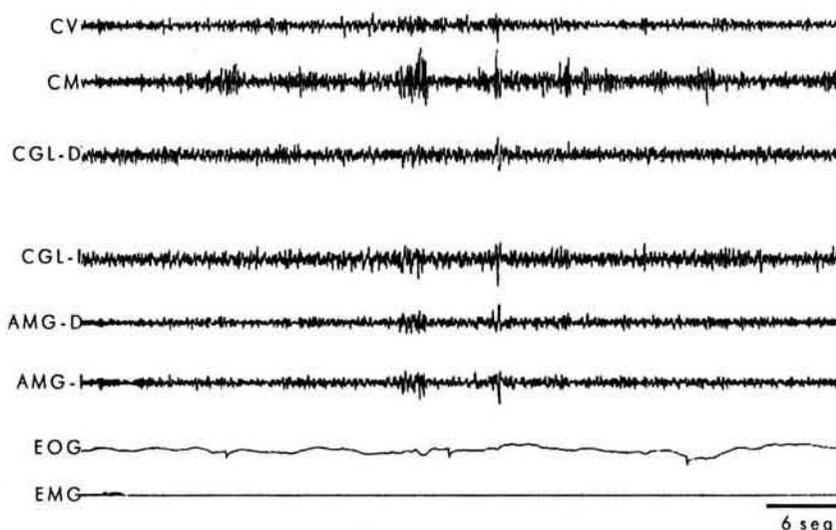


Figura 2. Fase I del sueño. Nótese la ausencia de tono muscular y de MORs y la aparición de actividad EEG lenta y de alto voltaje. Abreviaciones Figura 1.

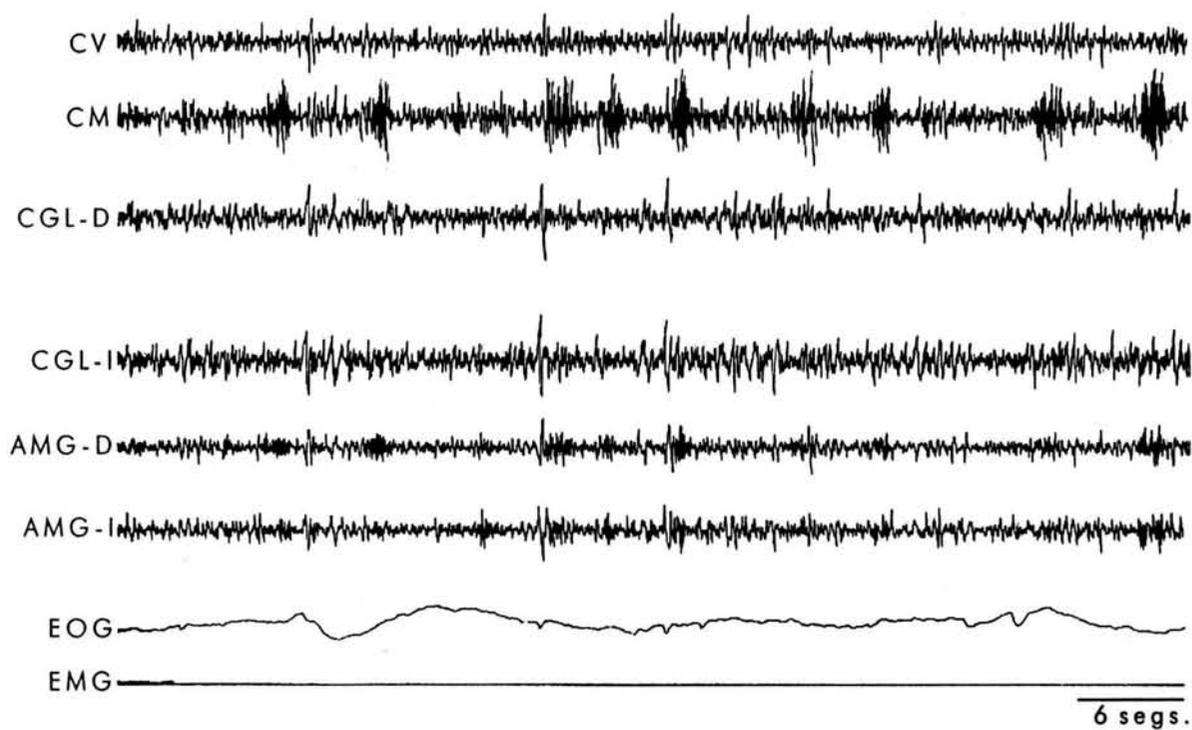


Figura 3. Fase 2 del sueño. Nótese, la aparición sostenida de husos del sueño. Abreviaciones Figura 1.

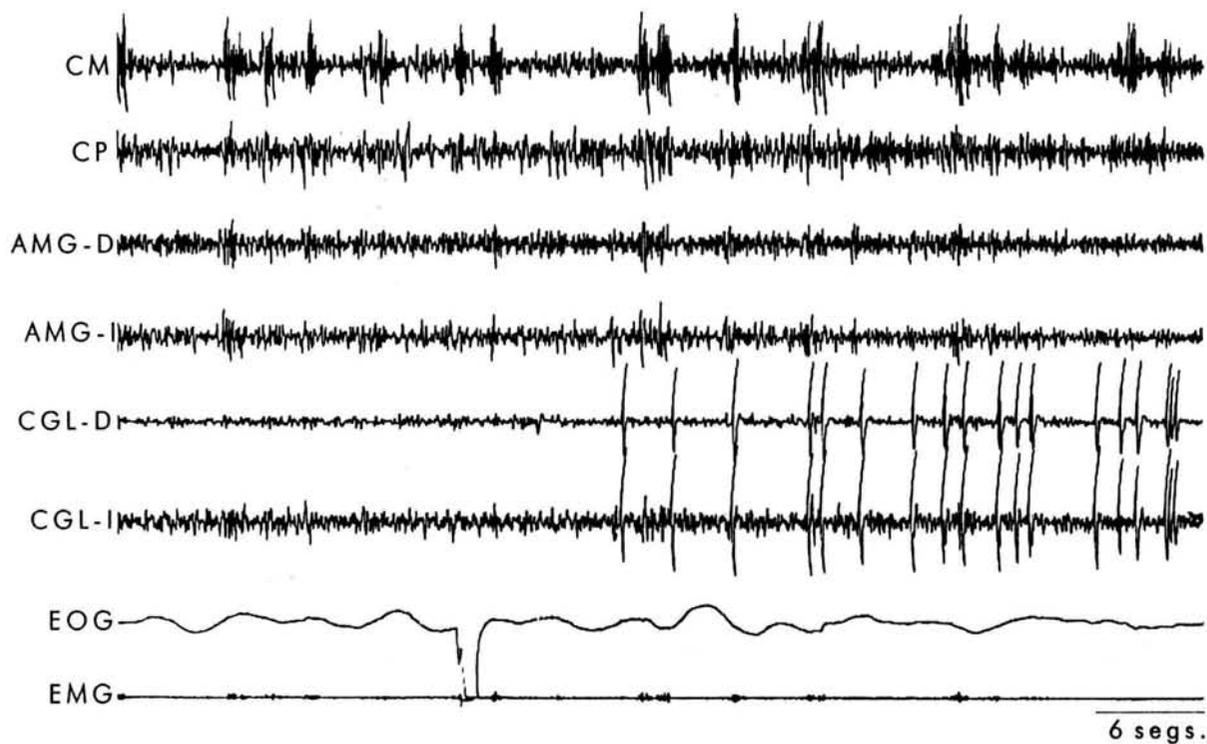


Figura 4. Sueño fásico en ondas lentas (SFOL). Nótese la aparición de potenciales PGO simples y de alto voltaje y la presencia de husos del sueño. Abreviaciones Figura 1.

Sueño MOR

Aspectos conductuales.

Durante el sueño MOR, los gatos toman la posición de ovillo y se puede observar la aparición de los movimientos oculares rápidos en sentido horizontal, vertical u oblicuo, que se acompañan de miosis acentuada ininterrumpida fasicamente por breves midriasis y de retracciones fásicas de las membranas nictitantes (Berlucchi et al., 1964). Aparecen movimientos fásicos rápidos de las orejas, las vibrisas y de las extremidades. La respiración se vuelve irregular y con periodos cortos de apnea.

Aspectos poligráficos.

El sueño MOR ocurre de una manera cíclica y siempre después de un periodo de SOL y su duración promedio es de 4 min. Poligráficamente, se caracteriza por la desincronización EEG, atonía muscular, los MORs y los potenciales PGO. Figura 5.

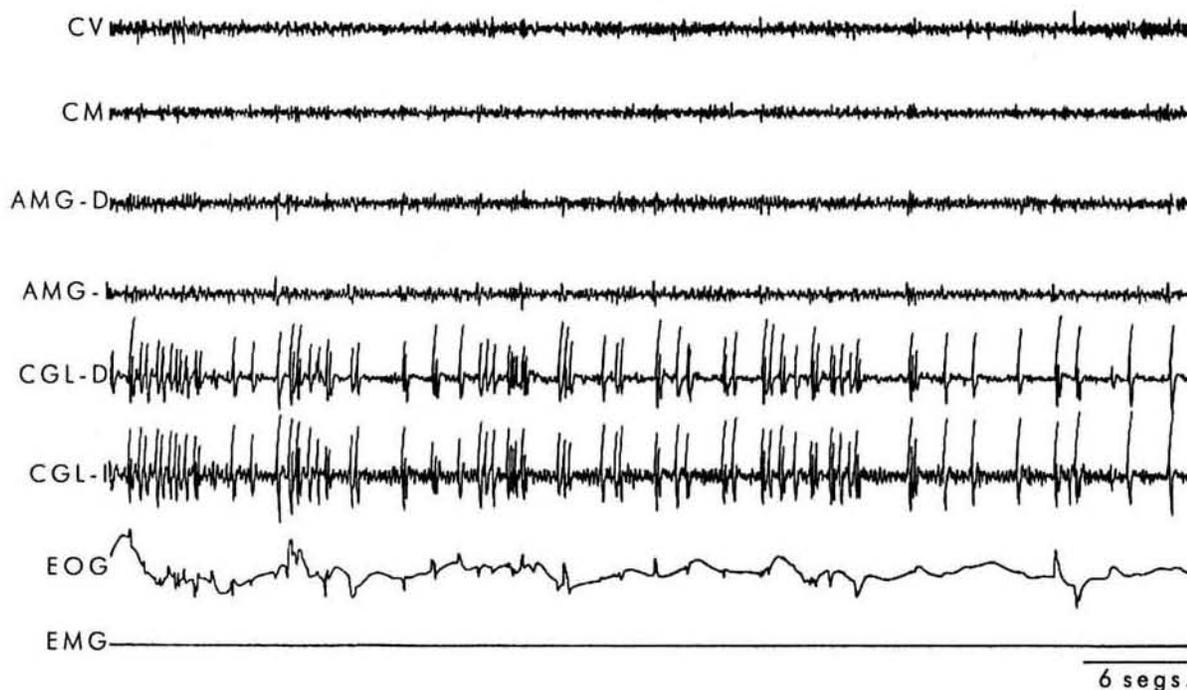


Figura 5. Sueño con movimientos oculares rápidos (MOR). Nótese, la aparición sostenida de salvas de potenciales PGO, la aparición de movimientos oculares rápidos (MORs), la ausencia de tono muscular y la desincronización EEG. Abreviaciones Figura 1.

REGIÓN PARABRAQUIAL (PBL)

El núcleo para braquial (PBN) está constituido por un grupo de neuronas que rodean al pedúnculo cerebelar superior en la porción dorso lateral de la región pontina. El PBN está involucrado en funciones sensoriales, viscerales, conductuales y neuroendocrinas, como el gusto (Norgren, 1976), la respiración (Bertrand y Hugelin, 1971), el control cardiovascular (Mraovitch et al., 1982), la secreción de adrenocorticotrofina (ACTH) (Ward et al., 1976), y en el sueño (Saito et al., 1977).

Por otra parte se ha mostrado, el papel del sistema colinérgico del tallo cerebral en la generación del sueño MOR y en la génesis de los potenciales PGO. Existen grupos de neuronas que también rodean al pedúnculo cerebelar superior, al nivel de la formación reticular pontomesencefálica, denominada región parabraquial (PBL), juega un papel predominante en la generación de los potenciales PGO. Esta región se extiende desde el borde caudal del núcleo rojo, hasta el polo rostral del PBN. Los núcleos mayores de la región PBL son: el núcleo tegmental pedúnculo pontino (PPT), el núcleo tegmental laterodorsal (LDT), y el núcleo cuneiforme (NCF), (Saper y Loewy, 1980; Fulwiler y Saper, 1984).

El área parabraquial en el gato incluye tanto núcleos colinérgicos, como núcleos no colinérgicos y se localizan entre el plano estereotáctico anterior 1 y el posterior 5.

La parte rostral de la región PBL (R-PBL) es más medial y ventral si se compara su parte caudal (C-PBL), (Datta y Hobson, 1994). Con base en la localización, densidad y respuestas fisiológicas de estas células colinérgicas, la región PBL puede ser dividida en la parte rostral (R-PBL) y C-PBL.

El C-PBL se extiende desde el plano estereotáctico posterior 2 hasta el cinco y el área comprendida entre los planos posteriores 3.5 y 4.5, es donde se generan los potenciales PGO (Datta et al., 1992).

Desde el estudio realizado por Saito et al., 1977, en el cual registró las neuronas del núcleo parabraquial del gato, se mostró la participación de esta región sobre la

actividad PGO. En estos registros él observó que las neuronas disparan en salvas de 3 a 5 potenciales de acción que duran aproximadamente 20 mseg. y aparecen de 5 a 25 mseg. antes de los potenciales PGO registrados en el CGL. Estos resultados muestran que la región PBL juega un papel central en la generación de los potenciales PGO.

En otros estudios, Sakai y Jouvet (1980) también encontraron otros grupos neuronales pontinos que pueden ser excitados antidromicamente por la estimulación del CGL, estas neuronas también muestran salvas de disparo que preceden a los potenciales PGO registrados en el CGL. Estas neuronas se localizaron principalmente en el tegmento pontino dorso lateral, el *locus coeruleus* rostral, y una región denominada el área "x". Esta área "x" contiene células medianas y grandes localizadas dorso lateralmente al borde lateral del BC y se extienden desde el extremo caudal del núcleo oculomotor hasta el polo rostral del núcleo PBL (Koyama y Sakai, 2000).

En estudios neuroanatomicos donde se utilizan marcadores de transporte retrogrado y anterogrado, muestran que el PBL esta conectado con otras estructuras pontinas relacionadas con la generación de los potenciales PGO y el sueño MOR. Los axones de las neuronas del PBL terminan en el FTG, en el *Raphé*, y en el *locus coeruleus*. El área PBL también recibe proyecciones desde el *Raphe* y el LC. Asimismo, tiene conexiones recíprocas con el núcleo central amigdalino, a través del haz amigdalofugal ventral.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen evidencias clínicas y experimentales que demuestran la influencia inhibitoria del sueño MOR sobre la epileptogénesis y las crisis epilépticas ya establecidas. Esta característica del sueño MOR ha sido descrita a partir de la observación de la abolición, o bien, de la disminución significativa de las descargas epilépticas durante esta fase del sueño. Asimismo, se ha mostrado que las crisis convulsivas generalizadas no se generan durante los episodios de sueño MOR.

Por otra parte, a partir de los numerosos estudios experimentales se ha demostrado que el sueño MOR se integra en diferentes regiones del tallo cerebral y prosencefálicas, sobre las cuales actúan diferentes neurotransmisores y factores neurohumorales (véase antecedentes). Esto indica que para avanzar en el conocimiento del efecto inhibitorio del sueño MOR sobre la epilepsia, es necesario considerar que éste es un estado fisiológico complejo, generado por diversos procesos electrofisiológicos y neuroquímicos. Por lo tanto, es necesario analizar cual componente fisiológico del sueño MOR es el responsable de inhibir la actividad epiléptica.

Existe un consenso general de que los potenciales PGO, que siempre preceden y acompañan al sueño MOR, son el componente principal de los mecanismos de generación y mantenimiento del sueño MOR. En estudios experimentales previos, se encontró que la epileptogénesis inducida por el kindling amigdalino, se retrasa significativamente cuando los estímulos eléctricos, son aplicados durante una salva de potenciales PGO del sueño MOR (Calvo et al., 1982; Calvo, 1991). También se ha mostrado que las espigas epilépticas provocadas por la aplicación tópica de penicilina en la amígdala, disminuyen desde unos segundos antes del sueño MOR, cuando comienzan a ocurrir los potenciales PGO (Fernández et al., 1991; Fernández et al., 1995). Estos estudios permitieron proponer que los potenciales PGO del sueño MOR tienen un efecto inhibitorio sobre la epilepsia, sin embargo, los protocolos experimentales utilizados, no permitieron distinguir si la inhibición de las descargas epilépticas se

debe a los potenciales PGO por si mismos o, al sueño MOR como un estado fisiológico total.

En un estudio posterior sobre los mecanismos generadores de los potenciales PGO, se demostró que la aplicación tópica de carbacol en la región PBL del tegmento pontino, provoca la aparición ininterrumpida de potenciales PGO, independientes de los episodios de SFOL y de sueño MOR, durante 4 a 6 hrs, y que este fenómeno va seguido de la instalación de un número elevado de episodios de sueño MOR (Datta et al., 1992). Por lo tanto, este protocolo experimental permite analizar la probable influencia inhibitoria de los potenciales PGO sobre la epilepsia y distinguirla de la que probablemente ejerce el estado global del sueño MOR.

OBJETIVOS

a) Implementar la técnica para la inducción de potenciales PGO independientes de los estados del sueño, mediante la microinyección de carbacol en la región PBL y determinar la duración de este fenómeno en el gato. Asimismo, determinar la latencia de aparición del sueño MOR, a partir del momento de la microinyección de carbacol.

b) Determinar la latencia de aparición de las espigas, crisis focales y crisis epilépticas generalizadas, a partir de la aplicación tópica de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal. Asimismo, determinar la frecuencia, el número y duración de las espigas y crisis epilépticas inducidas, así como la duración en horas de estos fenómenos epilépticos en el gato.

c) Determinar los cambios en la evolución, el número, la frecuencia y la duración de los fenómenos epilépticos, cuando la aplicación de penicilina en la amígdala es precedida o seguida de la inducción de potenciales PGO en el gato.

d) Determinar la organización temporal del sueño, a partir de los registros poligráficos de 23 hrs, llevados en condiciones de control, durante la inducción de potenciales PGO, durante la inducción de crisis epilépticas amigdalinas y cuando la

inducción de crisis es precedida o seguida de la inducción de potenciales PGO. Además determinar la frecuencia y patrón de ocurrencia de los potenciales PGO en todas las situaciones experimentales.

HIPÓTESIS

Si los potenciales PGO por si mismos tienen un efecto inhibitorio sobre la epileptogénesis y la epilepsia establecida, entonces la inducción de potenciales PGO independientes de los estados del sueño, retrasará la instalación y disminuirá el número y la duración de las descargas epilépticas provocadas por la aplicación tópica de penicilina en la amígdala del lóbulo temporal.

MATERIAL Y MÉTODO

Sujetos experimentales

Se utilizaron 9 gatos adultos machos (*Felix domesticus*), con un peso entre 3 y 3.8 Kgs. en preparación crónica, con electrodos para el registro del sueño y con cánulas para la administración de sustancias. Los gatos fueron proporcionados por el bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Los gatos utilizados se encontraron en perfectas condiciones de salud al momento de la operación y durante toda la fase experimental, en el bioterio se encargaron de desparasitar y de vacunar a los animales, tratando así de evitar la presencia de cualquier variable extraña, como temperatura o infecciones que pueden modificar la arquitectura del sueño, de manera que estas variables nunca afectaron nuestros resultados y además para cumplir con los criterios internacionales para el uso de animales de experimentación.

Material

3 cámaras sonoamortiguadas de registro para gato

Mesa para intervenciones quirúrgicas de animales experimentales

Aparato estereotáxico para gato

Material quirúrgico

Acrílico dental

Cera para hueso

Hilo para suturar 000

Alambre de acero inoxidable (0.0048 mm de diámetro, aislado con barniz)

Electrodos epidurales de acero inoxidable en forma de clavo

Cánulas calibre 32, 26, y 24

Micro jeringa Hamilton (1ml, 10ml)

Sustancias

Antibióticos (Benzetazil 1 000 000, terramicina)

Antisépticos (agua oxigenada, alcohol, isodine, benzal)

Carbacol (Carbamylocholine Chloride $8\mu\text{g}/.5\mu\text{l}$)

Solución salina

Rompun ($.5\mu\text{l}$ /dosis única)

Propofol (2 ml administrados durante toda la operación)

Xilocaina

Formaldehido al 37%

Penicilina G Sódica (250 UI/ $1\mu\text{l}$)

Aparatos

2 polígrafos Grass modelo 78-D (8 canales)

Polígrafo Grass modelo 79-E (8 canales)

2 osciloscopios Tektronix Modelo TDS-210

Videograbadora Vetter modelo 500G adaptada para señales bioeléctricas

Digitalizador de señales diseñado y construido en el laboratorio de computo del INP

3 computadoras

Cámara de video

Criostato

Procedimiento quirúrgico

Las intervenciones quirúrgicas para la implantación crónica de los electrodos y cánulas se realizaron bajo anestesia general con pentobarbital sódico (33mg/kg), precedido de un relajante muscular Rompun (.5 ml administrados durante toda la cirugía), para el fácil manejo del animal. Los animales fueron canalizados para administrarles suero durante la cirugía y para administrar más anestesia de ser necesario,

Una vez expuesto el cráneo, el techo del seno frontal se abrió parcialmente y se colocaron los electrodos para el registro del EOG en los límites anterior y posterior de la órbita ocular. Se practicaron unas aberturas de 5x7 mm aproximadamente en el hueso del cráneo, las cuales permitieron la penetración de microelectrodos en diferentes planos horizontales y verticales. Para explorar la actividad eléctrica de la amígdala, se colocaron estereotaxicamente (Anterior 11.5, Lateral 10, Vertical 3.0(+10)) electrodos en cada una de las amígdalas, sobre los electrodos se adhirieron unas cánulas guía de acero inoxidable (calibre 24) que nos permitieron realizar la administración tópica de penicilina para la producción de los focos epilépticos. En estas cánulas se colocó un mandril (calibre 36) de acero inoxidable para evitar que las cánulas se taparan, este mandril solo fue retirado al momento de hacer las microinyecciones e inmediatamente después se introdujo de nuevo.

Se colocaron de manera bilateral cánulas guía (calibre 24) en la región PBL (Posterior 4.0; Lateral 4.5; Vertical -2.0, a 38 grados) para la microinyección repetida de carbacol (8 μ g/.5 μ l) y la consecuente producción de potenciales PGO. Las cánulas

se colocaron 3mm arriba de la región PBL, con el fin de evitar daño tisular previo y realizar la primera microinyección en un sitio virgen. Para la microinyección del fármaco se utilizó un inyector (cánula calibre 36) que media 3mm más que ambas cánulas.

Los electrodos para el registro del EEG se colocaron superficialmente sobre la corteza sensoriomotora (para registrar predominantemente los husos del sueño) y sobre la corteza parietal (para registrar predominantemente las ondas lentas), además se colocaron también electrodos para registrar la actividad de la corteza visual.

Para el registro de los potenciales PGOs se colocaron estereotaxicamente electrodos constituidos por 5 alambres de acero inoxidable (de 0.25 mm de grueso y con 0.5 mm de separación vertical entre las puntas) en ambos cuerpos geniculados laterales (coordenadas Anterior 6.5, Lateral 9.5, Vertical +3.5).

También se colocaron bilateralmente electrodos monopolares en los músculos dorso cervicales de la nuca (cuello) para el registro del EMG y un electrodo más sobre el seno frontal que fue utilizado como electrodo tierra. Los alambres provenientes de todos los electrodos fueron soldados a un conector de 25 puntas, finalmente los electrodos y cánulas fueron fijados al cráneo con acrílico dental. Todo este arreglo permitió hacer la valoración y análisis del ciclo sueño-vigilia durante y después de la realización de los registros polisomnográficos. En el cemento acrílico también se incluyeron 2 bujes de 3mm de diámetro, que sirvieron para sujetar la cabeza del animal en ausencia de dolor al aparato estereotáxico, para llevar a cabo las microinyecciones.

Al finalizar las intervenciones quirúrgicas, se aplicaron antibióticos tópicamente en los bordes de las heridas (terramicina), y por vía intramuscular (Benzetazil 1 000 000 UI) una sola vez para evitar posibles infecciones. Además se le administro al animal suero (solución salina 9%), los 3 o 4 días posteriores para facilitar su recuperación.

Periodos de recuperación y habituación a las situaciones experimentales.

Inmediatamente después de las intervenciones quirúrgicas los animales fueron sometidos a un periodo de recuperación de 8 a 10 días. Durante este periodo los gatos

permanecieron en la cámara de registro (sonoamortiguada) con acceso libre de agua y alimento; bajo un ciclo de luz-oscuridad constante (12:12 hrs) a temperatura ambiente. El ciclo de luz-oscuridad estuvo invertido, su periodo de oscuridad fue de 9am a 9pm, siendo el de luz de 9 pm a 9 am, aproximadamente. Los gatos fueron alimentados y "aseados" entre las 8 y 9 de la mañana.

Antes de comenzar las series experimentales, los animales fueron habituados a los cables y a las condiciones de registro, los animales fueron conectados durante las 24 horas del día en ausencia de registro durante una semana.

Registros poligráficos.

Los animales fueron registrados y mantenidos en cajas sonoamortiguadas para registro poligráfico de sueño (2.5 m x 90 cm). Ya habituados los gatos comenzaron los registros control (3 registros) y después las series experimentales, los animales fueron registrados siempre durante 23 hrs, de nueve de la mañana a 8 de la mañana del día siguiente dejando una hora para limpiar las cajas y alimentar a los animales.

Estos registros fueron valorados y calificados visualmente, se registraron 2 cortezas, las dos amígdalas, dos cuerpos geniculados laterales, el EOG y el EMG.

Estos registros fueron analizados tomando en cuenta la duración promedio, el porcentaje, latencia y número de cada una de las diferentes fases del ciclo sueño-vigilia. Los valores obtenidos fueron los que se compararon entre sí en cada una de las situaciones experimentales, entre las situaciones control.

Administración tópica de carbacol

Las microinyecciones de carbacol (Sigma) se realizaron una vez a la semana, siempre a la misma hora. El procedimiento de las microinyecciones fue el siguiente:

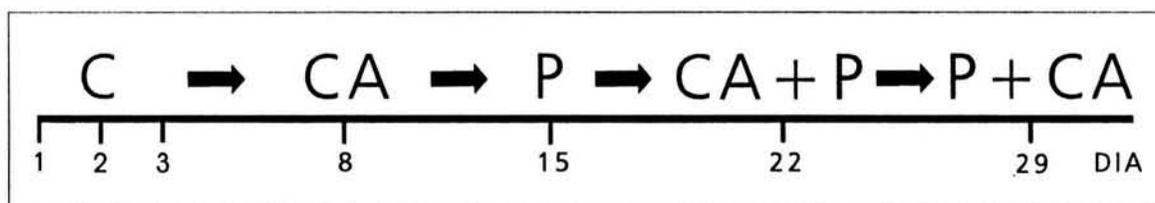
El carbacol se pesó el mismo día de la microinyección, enseguida este se disolvió en solución salina para obtener la dosis deseada. Los inyectores contruidos con una cánula (calibre 36) fueron conectados a un catéter (calibre 34) y este a la vez fue

conectado a una jeringa Hamilton de $1\mu\text{l}$, y se comprobó el flujo de la sustancia a través del sistema de inyección. Aunque se implantaron cánulas guía bilateralmente en la región PBL, las microinyecciones siempre fueron unilaterales. Se retiró el mandril e inmediatamente después el inyector se insertó en la cánula guía implantada crónicamente, para administrar el carbacol. El tiempo de administración fue de 2 min., se utilizó una bomba de perfusión continua. El inyector se mantuvo en el sitio de inyección 2 minutos más antes de extraerlo. Después se retiró el inyector, y se verificó nuevamente el flujo de la sustancia. Después se colocó de nuevo el mandril para evitar que la cánula guía se tapara. Todo este procedimiento tomó aproximadamente 5 min.

Administración tópica de penicilina

La penicilina G sódica fue disuelta en solución salina para obtener dosis de 250 UI/ $1\mu\text{l}$, la administración fue de la misma manera que el carbacol pero en este caso siempre se realizaron las microinyecciones en la AMG del lóbulo temporal, y cuando la aplicación fue en combinación con el carbacol el procedimiento fue el mismo. Cuando se aplicó primero el carbacol esperamos una hora para el establecimiento de los potenciales PGO y después se aplicó la penicilina y cuando se aplicó primero la penicilina esperamos 30 minutos para comprobar la producción del foco penicilínico e inmediatamente después se administró el carbacol en la región PBL.

Situaciones Experimentales



Esquema representativo de las diferentes condiciones experimentales. C, Registros Control; CA, aplicación de Carbacol; P, aplicación de Penicilina; CA+P, aplicación de carbacol seguida de penicilina; P+CA, aplicación de penicilina seguida de carbacol.

Análisis estadístico

A partir de los trazos poligráficos se cuantificó el número de CCGs, su duración y la frecuencia de espigas epilépticas en las diferentes situaciones experimentales. Para la frecuencia se contaron las espigas que ocurrieron durante tres minutos independientemente de la fase del sueño o vigilia en la que se encontrara el animal y estos conteos se realizaron cada 30 min, hasta obtener 18 muestras (9hrs).

Para el análisis de los estados del sueño y de la vigilia, se determinaron visualmente los periodos de vigilia, SOL-1, SOL-2, los episodios de SFOL y del sueño MOR según la clasificación realizada por Ursin y Sterman (1968).

El análisis estadístico del porcentaje, número, duración promedio, y latencia de cada una de las fases de vigilia y sueño, se calculo mediante un programa computacional para la valoración del sueño en el gato (Calvo y Fernández-Mas, 1991). Todas estas variables se promediaron en situaciones control y en cada una de las situaciones experimentales.

Para el análisis de los potenciales PGO se obtuvieron grabaciones en cintas magnéticas de la actividad PGO, tanto en situaciones control como en las diferentes situaciones experimentales, esta actividad se analizo mediante un programa computacional diseñado en nuestro laboratorio. Este programa nos proporciona datos sobre las características de la actividad PGO, tales como: la densidad (número de potenciales PGO/minuto) y patrón de ocurrencia (frecuencia de aparición de potenciales simples, dobles, triples, cuádruples, quíntuples y salvas de seis o más potenciales). Además de este análisis se analizaron las PGOs grabadas en un osciloscopio para conocer las variaciones en el voltaje de las PGOs. Los valores obtenidos fueron promediados en situaciones de control y en cada una de las situaciones experimentales.

Para analizar estadísticamente los datos de todas las variables mencionadas se utilizaron pruebas "t", Análisis de la Varianza para muestras repetidas y la prueba post-hoc "Bonferrioni".

Verificación Histológica

Al finalizar las series experimentales los sitios de microinyección del carbacol y de la penicilina se verificaron histologicamente. Para ello, los gatos fueron sacrificados mediante una sobredosis de pentobarbital sódico, y perfundidos intracardiamente con solución isotónica de cloruro de sodio y formaldehído al 20%. Al día siguiente sus cerebros fueron extraídos y colocados en formaldehído al 20% durante 15 días. Posteriormente se utilizó la técnica del procedimiento rápido, que consiste en realizar cortes histológicos seriados cada 60 micras como negativos para obtener impresiones en papel fotográfico (Guzmán-Flores et al., 1958).

RESULTADOS

La severidad de las espigas epilépticas, crisis focales y de las CCGs provocadas por los focos penicilínicos amigdalinos es de menor intensidad y, las manifestaciones conductuales que acompañan a las crisis amigdalinas son abolidas, cuando se induce la ocurrencia de potenciales PGO, mediante la microinyección de carbacol en la región PBL.

A continuación se describe las diferencias conductuales y electrográficas de la epileptogénesis, de acuerdo con los diferentes grupos experimentales, también se describe las diferencias entre los cambios del ciclo sueño-vigilia encontradas en las diferentes situaciones experimentales.

RESULTADOS CUALITATIVOS.

Inducción de potenciales PGO

Entre 3 y 5 minutos después de la aplicación del carbacol en el PBL, ocurren los siguientes cambios conductuales. Los animales presentan marcha atáxica debida a la disminución del tono muscular de los miembros ipsilaterales al sitio de la microinyección de carbacol. Presentan dilatación pupilar, piloerección, la respiración se vuelve irregular y aparecen movimientos oculares rápidos, concomitantes con la instalación de los potenciales PGO independientes de los estados de sueño.

Los potenciales PGO se presentaron de manera sostenida durante 18 a 20 horas. Al principio, aparecen de manera ipsilateral al sitio de la microinyección y a los 20 o 25 minutos, ocurren de manera bilateral, aunque en el CGL ipsilateral se registran con un voltaje mayor que los registrados en el CGL contralateral (Figura 6).

Los potenciales PGO inducidos por el carbacol tuvieron un patrón de ocurrencia constante, que consistió en salvas de 4 a 6 potenciales a intervalos de 3 a 4 segundos, en las diferentes fases del ciclo sueño-vigilia, como muestran las figuras 7, 8, 9 y 10.

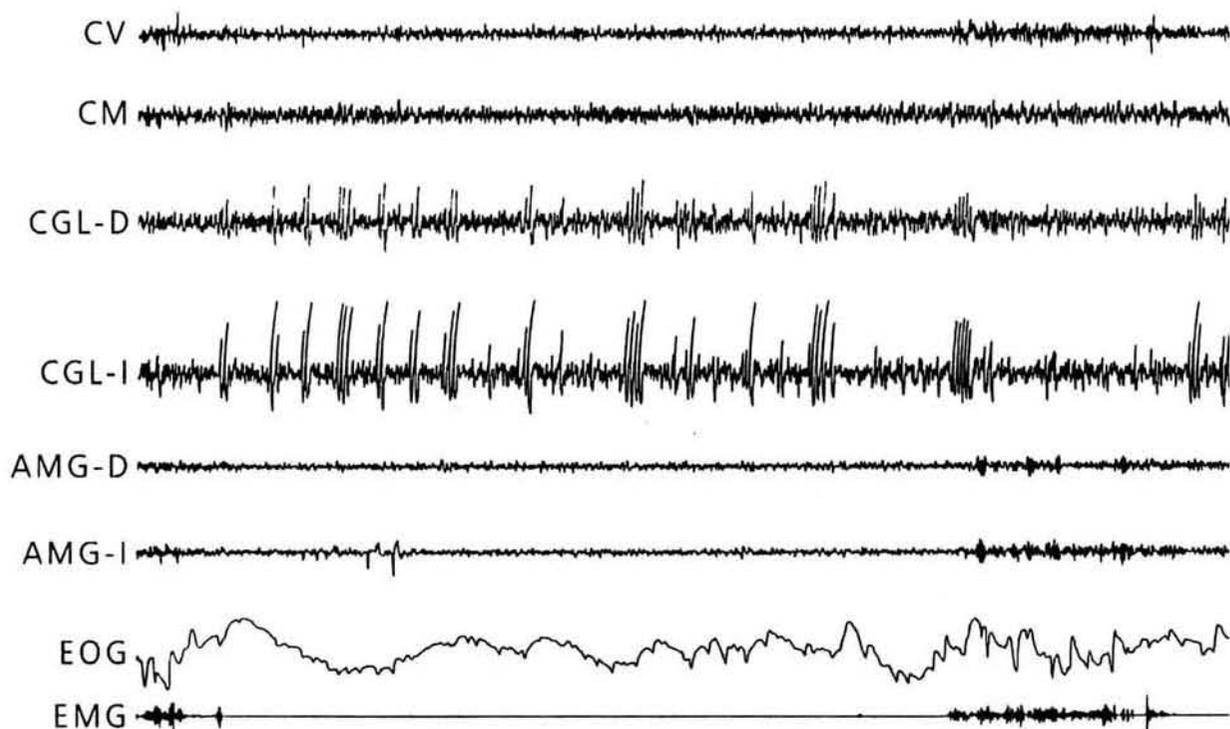


Figura 6. Ocurrencia de potenciales PGO predominantemente en el CGL ipsilateral al sitio de la microinyección de carbachol. Nótese el mayor voltaje de los potenciales en el CGL izquierdo (CGL-I). CV, corteza visual; CM, corteza motora; CGL, cuerpo geniculado lateral derecho e izquierdo; AMG, amígdala del lóbulo temporal derecha e izquierda; EOG, electrooculograma; EMG, electromiograma.

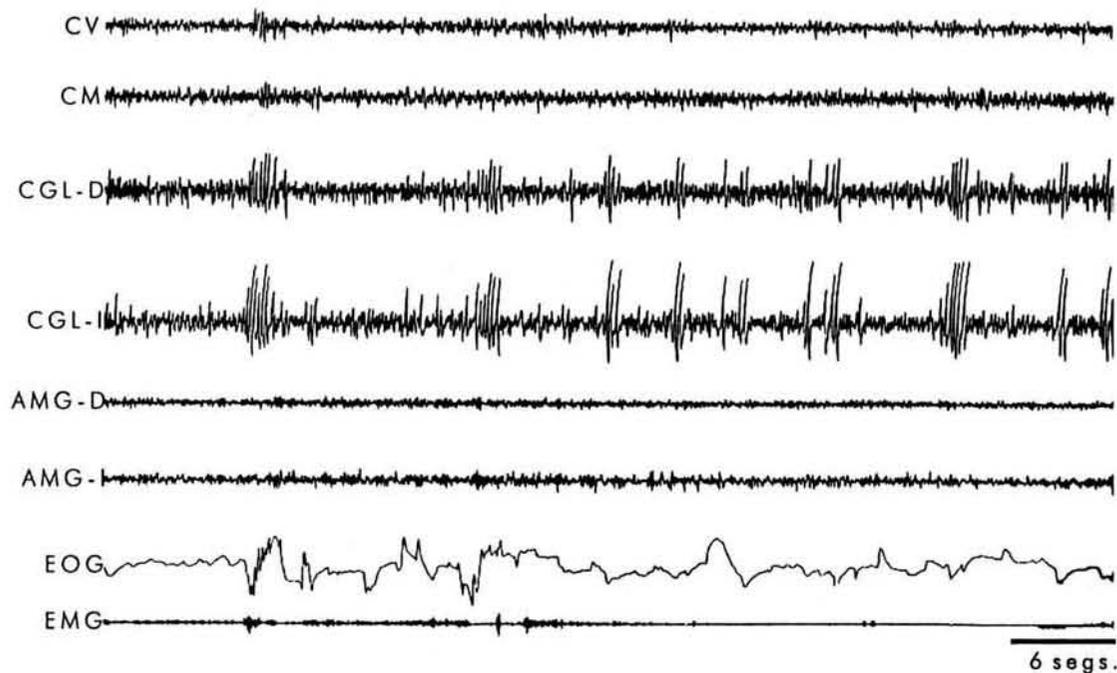


Figura 7. Potenciales PGO producidos por la aplicación de carbachol en la región PBL, durante el estado de Vigilia. Nótese los movimientos oculares y la presencia de tono muscular. Abreviaciones como las de la Figura 6.

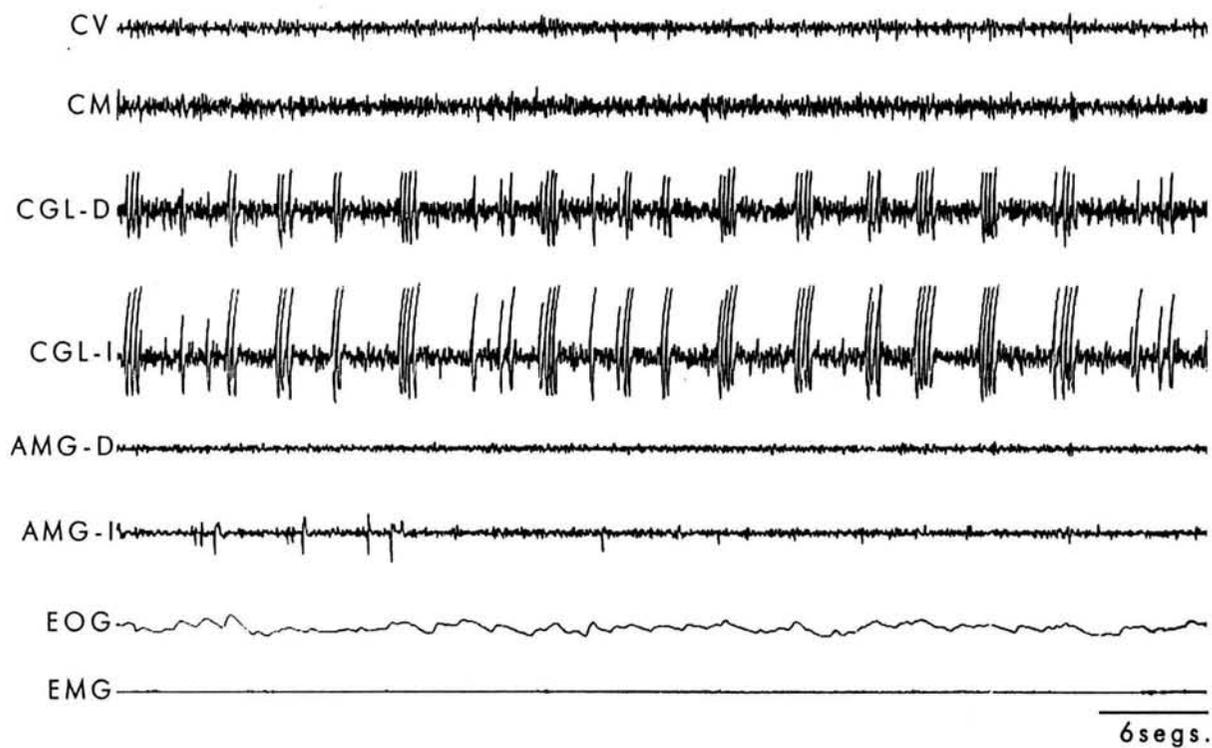


Figura 8. Ocurrencia de potenciales PGO en la Fase I del sueño. Abreviaciones como las de la Figura 6.

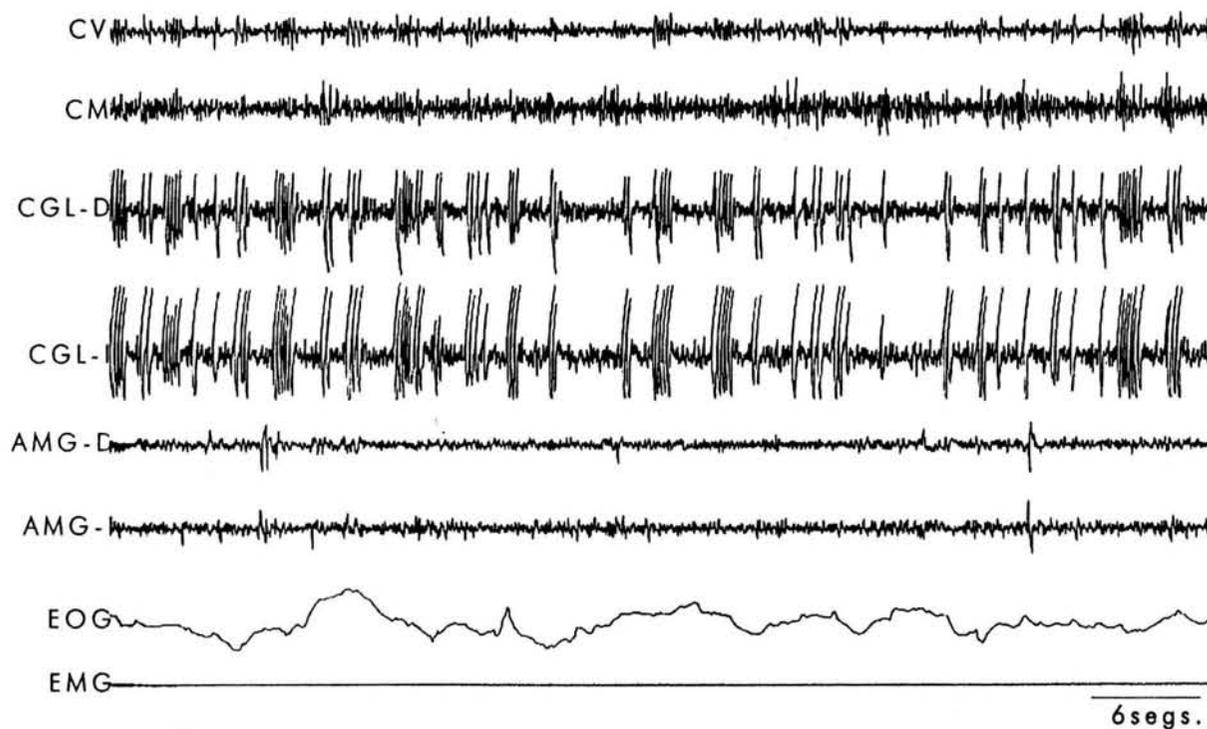


Figura 9. Ocurrencia de potenciales PGO durante un episodio de SFOL. Nótese la ocurrencia constante de salvas de estos potenciales, las cuales nunca ocurren en estos mismos episodios en situaciones de control (véase la Figura 4). Abreviaciones como las de la Figura 6.

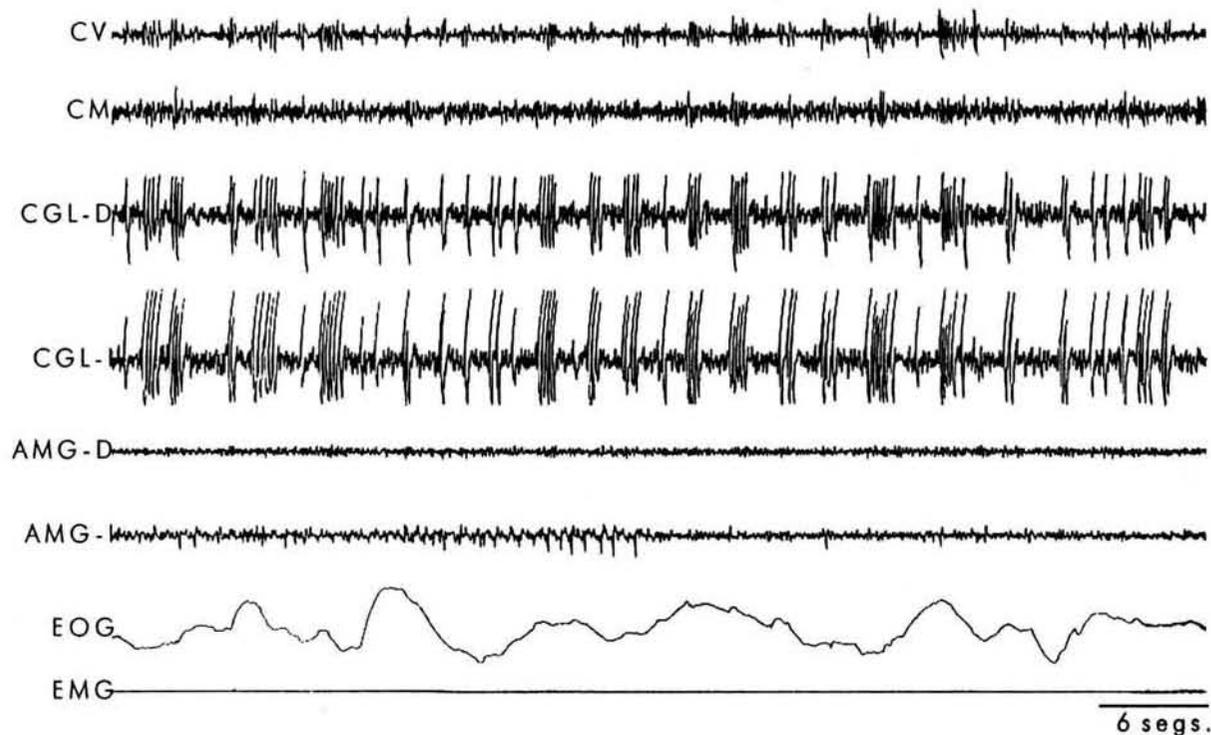
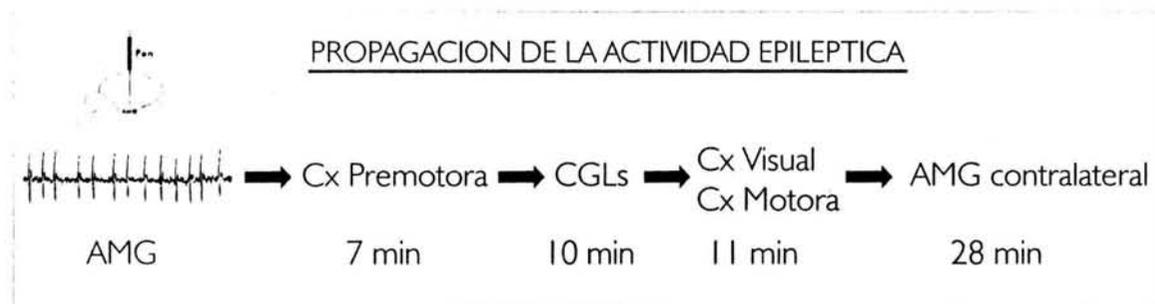


Figura 10. Potenciales PGO durante el Sueño MOR. Nótese la ocurrencia ininterrumpida de salvas de potenciales PGO de gran amplitud. Abreviaciones como las de la Figura 6.

De la misma manera en que el patrón de ocurrencia de los potenciales PGO es modificado durante el SFOL por la aplicación del carbacol en el PBL, los potenciales que ocurren durante el sueño MOR también se modifican y son de gran amplitud (Figura 10).

Inducción de la epileptogénesis amigdalina.

La aplicación de penicilina en el núcleo basal de la AMG del lóbulo temporal, provoca la pronta (1 minuto) ocurrencia de espigas bifásicas de alto voltaje. Al principio son simples pero aproximadamente a los siete minutos las espigas se vuelven complejas y comienzan a propagarse hacia otras estructuras (Figura 11). La primera estructura a donde se propagan las espigas es la corteza premotora, después hacia ambos CGL, la corteza visual, corteza motora (11 minutos) y por último, hacia la AMG contralateral (25 a 28 minutos) (Cuadro 1).



Cuadro 1. Tiempos para la propagación de las espigas epilépticas hacia diferentes estructuras cerebrales.

Además de estas espigas iniciales, en todos los animales se presentaron crisis focales con una duración entre 2 y 5 segundos (Figura 12), crisis focales secundariamente generalizadas de 40 a 60 segundos y CCGs cuya duración fue de 90 a 120 segundos (Figura 13).

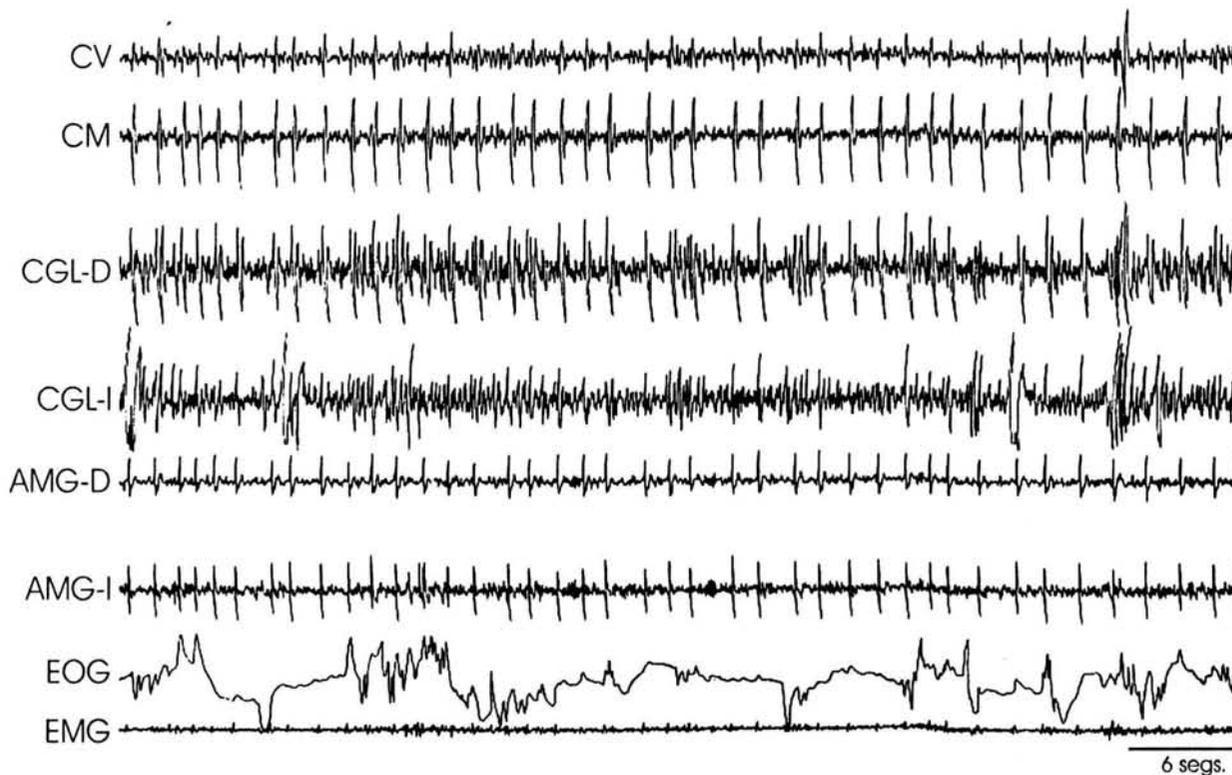


Figura 11. Espigas epilépticas ya propagadas hacia las diferentes estructuras cerebrales. Abreviaciones como las de la Figura 6.

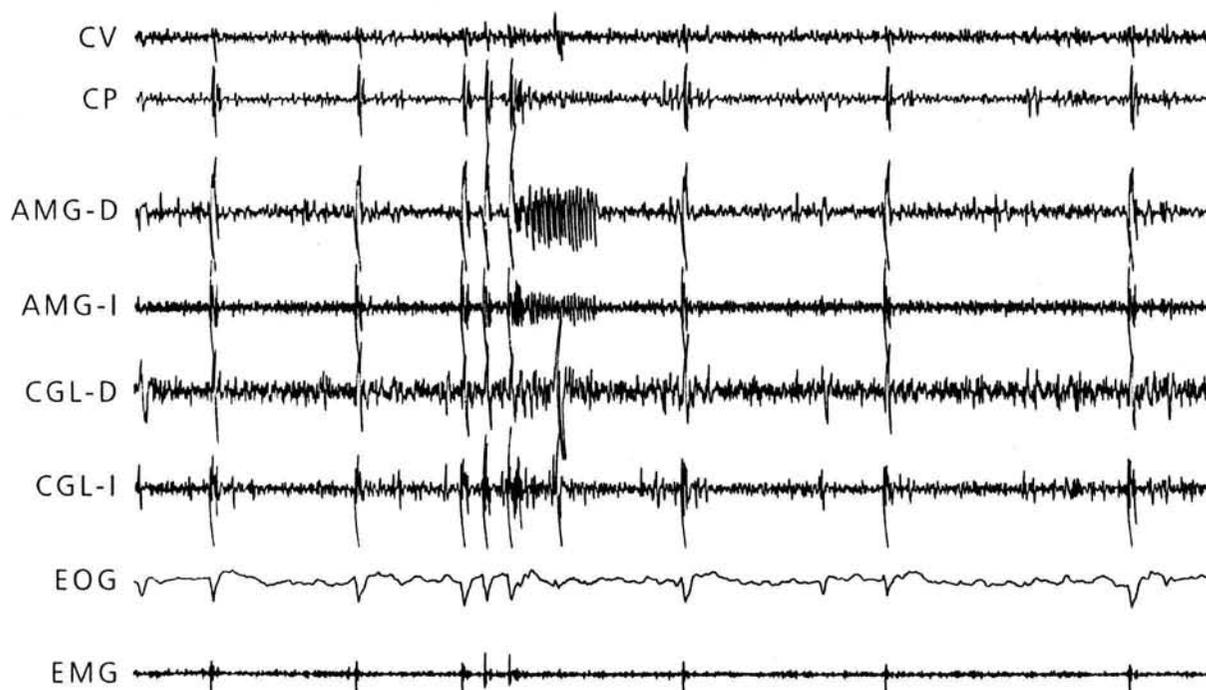


Figura 12. Trázo poligráfico que muestra una crisis epiléptica focal en la amígdala derecha (AMG-D), donde fue aplicada la penicilina. Abreviaciones como las de la Figura 6.

La aplicación de penicilina en la AMG provocó concomitantemente los cambios conductuales que a continuación se describen. Entre 3 y 5 minutos después de la instalación de las espigas epilépticas los animales presentaron guiño palpebral unilateral e ipsilateral al sitio de la aplicación de la penicilina, salivación, masticación y movimientos oscilatorios de la cabeza.

Conforme evoluciona la epileptogénesis, las manifestaciones conductuales son progresivamente más severas, el guiño palpebral se hizo bilateral, se presentaron reflejos de deglución y marcha en giros ipsilaterales al sitio de la inyección, que culminaron con contracciones musculares tónicas y clónicas de los miembros anteriores, hasta llegar a las crisis convulsivas tónico clónicas generalizadas (CCGs). En 3 de los 9 gatos estudiados, las CCGs fueron seguidas de *status* epiléptico.

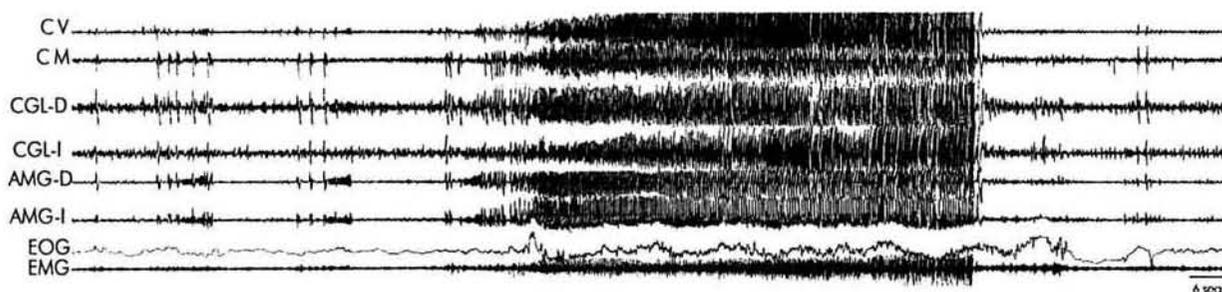


Figura 13. Crisis convulsiva generalizada. Abreviaciones, Abreviaciones como las de la Figura 6.

El efecto del foco epileptógeno penicilínico tiene una duración aproximada de seis a ocho horas. Durante este tiempo las espigas presentaron sus frecuencias más altas y fue el periodo en el que ocurren las CCGs. Éstas últimas ocurrieron en todos los animales y en promedio se presentaron a los 45 minutos de la aplicación de penicilina. Después de ocho horas, las espigas comienzan a disminuir de voltaje y de frecuencia y ya no se presentan CCGs. Las espigas continúan apareciendo a una menor frecuencia y aun 24 horas después pueden presentarse, particularmente durante la Fase II del sueño.

La aplicación de la penicilina provoca cambios sobre la organización del sueño, alarga la latencia al inicio del sueño y al sueño MOR, consecuentemente, disminuye la cantidad del sueño MOR, en comparación con la situación control y con las situaciones donde la penicilina es seguida o precedida por la inducción de potenciales PGO (Figuras 17 y 18).

Inducción de potenciales PGO, seguida de la aplicación del foco epileptógeno amigdalino.

Cuando la aplicación de carbacol en la región PBL, precedió a la aplicación de penicilina en la AMG del lóbulo temporal, se observaron cambios en la instalación, propagación y duración de la actividad epiléptica. La presencia de estos potenciales retrasó la instalación de las espigas epilépticas hasta por diez minutos, las espigas nunca

se propagaron al CGL ipsilateral al sitio de la microinyección de carbacol (PBL) y la duración de los grafoelementos epileptiformes fue en promedio de cinco horas.

Por otro lado, los componentes motores de las espigas y crisis focales que se observa con la aplicación de penicilina, no se presentaron cuando los potenciales PGO estuvieron presentes. Además, en comparación con el control, estos potenciales disminuyeron el número de crisis que presentó cada gato y retrasaron su ocurrencia en más del doble de tiempo (Figura 14). Solamente cinco de los nueve gatos presentaron crisis cuando el carbacol precedió a la penicilina y seis de los nueve gatos las presentaron, cuando la penicilina precedió al carbacol. Las crisis que se presentaron, además de ser de menor duración (Figura 15) y de no acompañarse de componentes motores y conductuales, sus grafoelementos solo permiten clasificarlas como crisis focales secundariamente generalizadas.

La propagación de las espigas epilépticas también ocurre en un tiempo mayor que en las condiciones de control, la propagación hacia la corteza premotora ocurre en 25 min en lugar de 7 min. En el CGL ipsilateral al sitio de la microinyección de carbacol nunca se presentó la propagación. Además, en todas las demás estructuras a donde se propagaron, siempre fueron de menor voltaje que las espigas provocadas por la simple penicilina. Es importante hacer notar que en presencia de los potenciales PGO, las espigas son únicamente simples y no se convierten en espigas complejas. También es de interés que los potenciales PGO y las espigas epilépticas nunca ocurren simultáneamente, (Figura 16). Además, en esta situación experimental las espigas epilépticas se mantienen por un tiempo menor (5 horas) que con la penicilina sola (hasta 24 horas) y desaparecen después de que ocurre el primer episodio de sueño MOR, fenómeno que no se observa cuando solamente se aplica la penicilina.

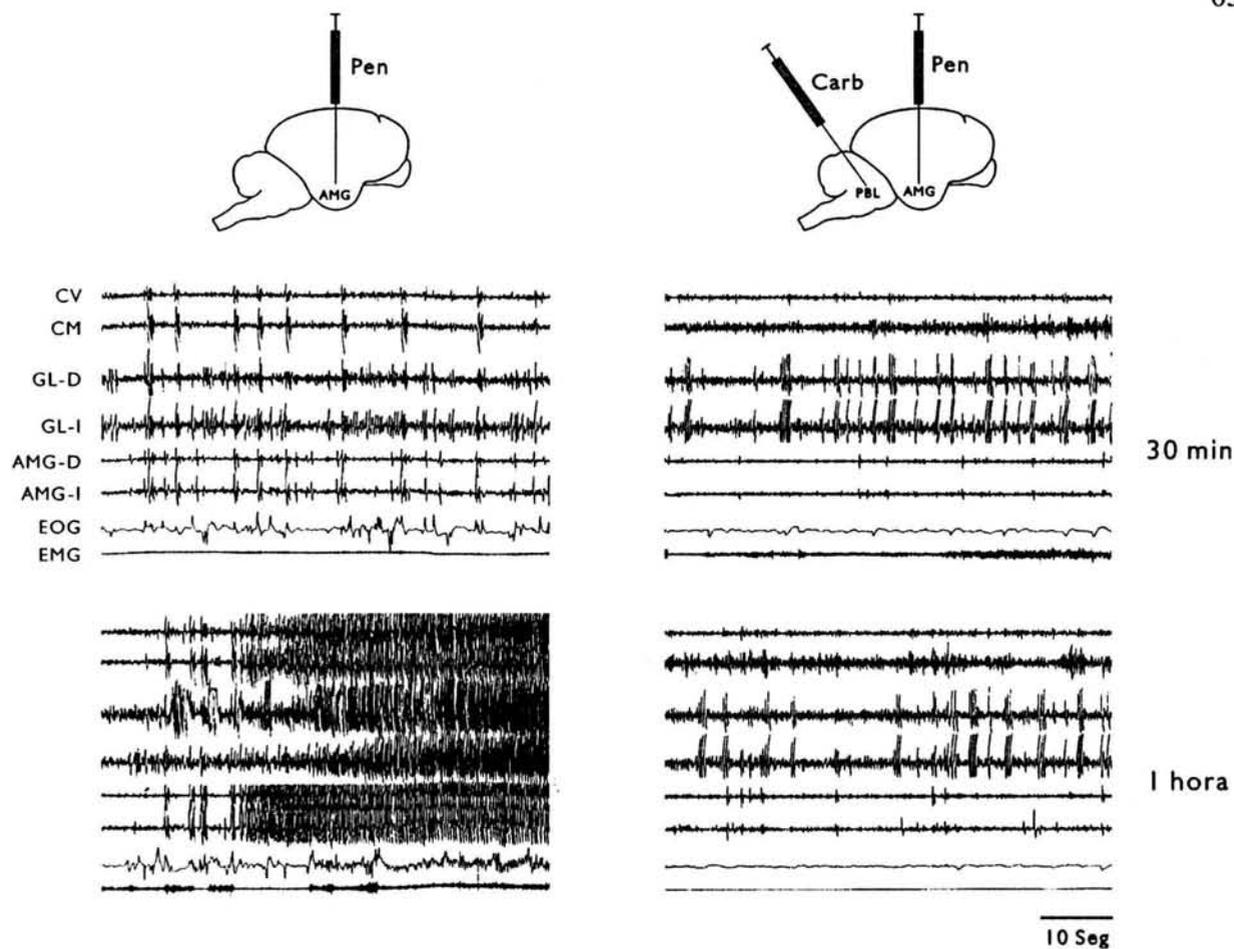


Figura 14. Evolución de las descargas epilépticas cuando se aplica únicamente penicilina (Izquierda) y cuando ésta está precedida por la inducción de potenciales PGO (Derecha). Nótese la menor frecuencia y amplitud de las espigas, la ausencia de su propagación y que en este tiempo (1 hora) aun no ocurren las crisis, cuando previamente se han inducido los potenciales PGO. Abreviaciones como las de la Figura 6.

En lo que concierne a la organización del sueño en esta situación experimental, las latencias al sueño y al sueño MOR están aumentadas, pero se observa un mayor número de episodios de SFOL y de sueño MOR (Figuras 17 y 18).

Aplicación del foco epileptógeno amigdalino, seguida de la inducción de potenciales PGO

A diferencia de la situación experimental anterior, esta manipulación permitió analizar el efecto de los potenciales PGO sobre las descargas epilépticas amigdalinas ya establecidas y propagadas hacia otras estructuras cerebrales. Los resultados mostraron

que la frecuencia, la amplitud y el voltaje de las espigas y descargas epilépticas, comenzaron a disminuir progresivamente a partir de la instalación de los potenciales PGO y continuaron disminuyendo progresivamente hasta prácticamente desaparecer 9 horas después. Es importante destacar que la propagación de las descargas se suprime con la instalación de los potenciales PGO, restringiéndose las descargas al foco primario.

En esta situación experimental, la instalación de los potenciales PGO, también evita las alteraciones de la organización del sueño provocadas por la instalación del foco epiléptico penicilínico, pues evita que las latencias al sueño y al sueño MOR se alarguen y por otra parte, induce la ocurrencia de un mayor número de episodios de SFOL y de sueño MOR (Figuras 17 y 18).

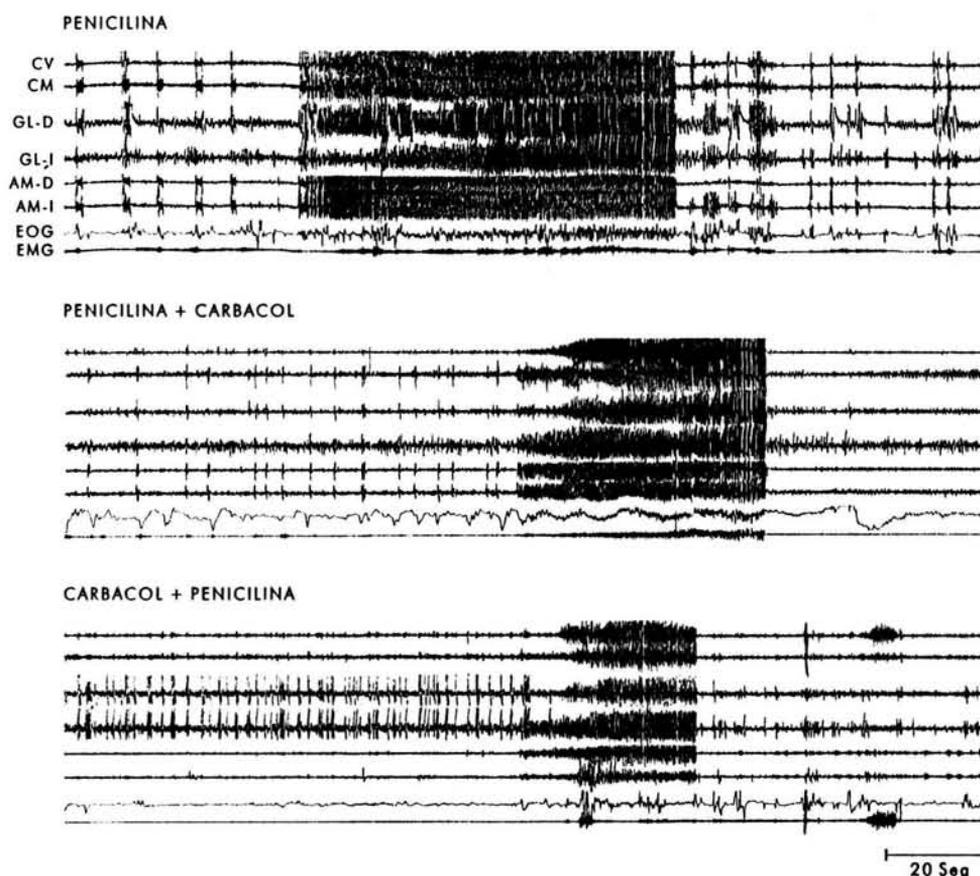


Figura 15. Trazos poligráficos que muestran las diferencias electrográficas entre las crisis producidas por penicilina (trazo superior), cuando la aplicación del foco epiléptico es seguida de la inducción de potenciales PGO (trazo intermedio) y cuando la inducción de potenciales PGO es seguida de la aplicación del foco epiléptico (trazo inferior). Nótese el número escaso de espigas de bajo voltaje, la menor duración de las crisis cuando esta precedida de potenciales PGO. CV, corteza visual; CM, corteza motora; GL, cuerpo geniculado lateral derecho e izquierdo; AM, amígdala del lóbulo temporal derecha e izquierda; EOG, electro oculograma; EMG, electromiograma.

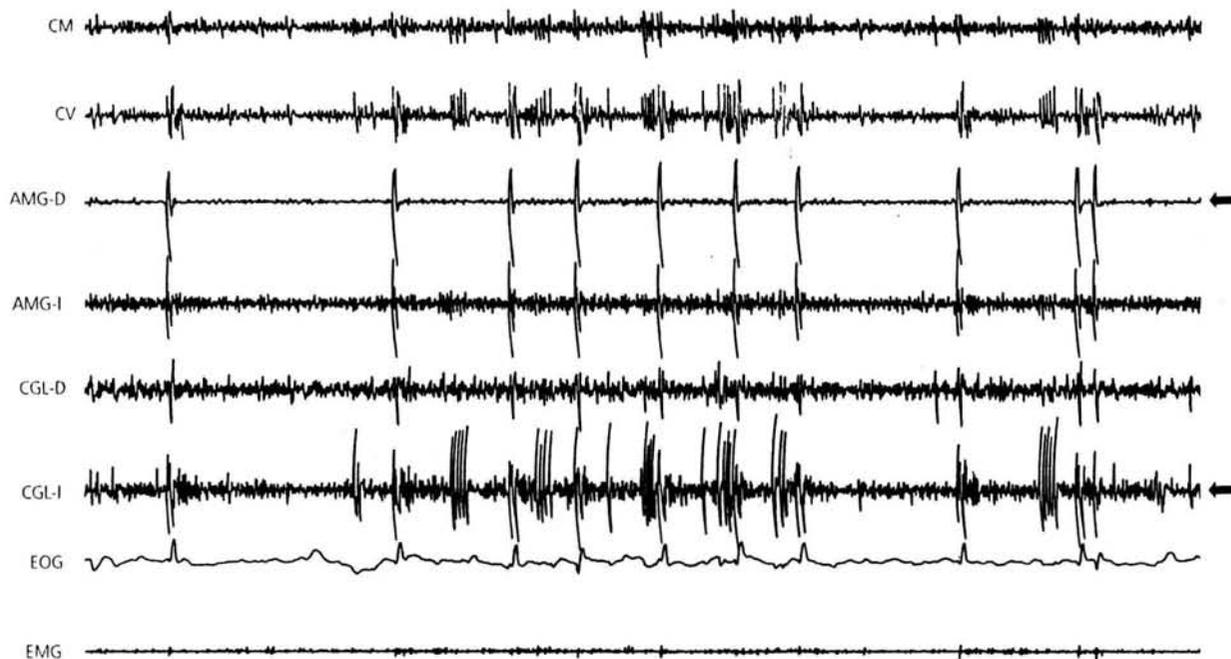


Figura 16. Ocurrencia de potenciales PGO además y de espigas epilépticas. Nótese que ambos fenómenos nunca ocurren simultáneamente. Las flechas indican la AMG estimulada, y el CGL ipsilateral a la región PBL estimulada. Abreviaciones como las de la Figura 15.

	Latencia al sueño	PGOs	CCGs
CARBACOL	↑	↑↑	
PENICILINA	↑↑↑	↓	↑
CARBACOL + PENICILINA		↑	↓
PENICILINA + CARBACOL		↑	↓

Esquema representativo de los efectos producidos sobre la latencia al sueño, los potenciales ponto-geniculo-occipitales (PGOs), y sobre las crisis convulsivas generalizadas (CCGs) en las diferentes condiciones experimentales.

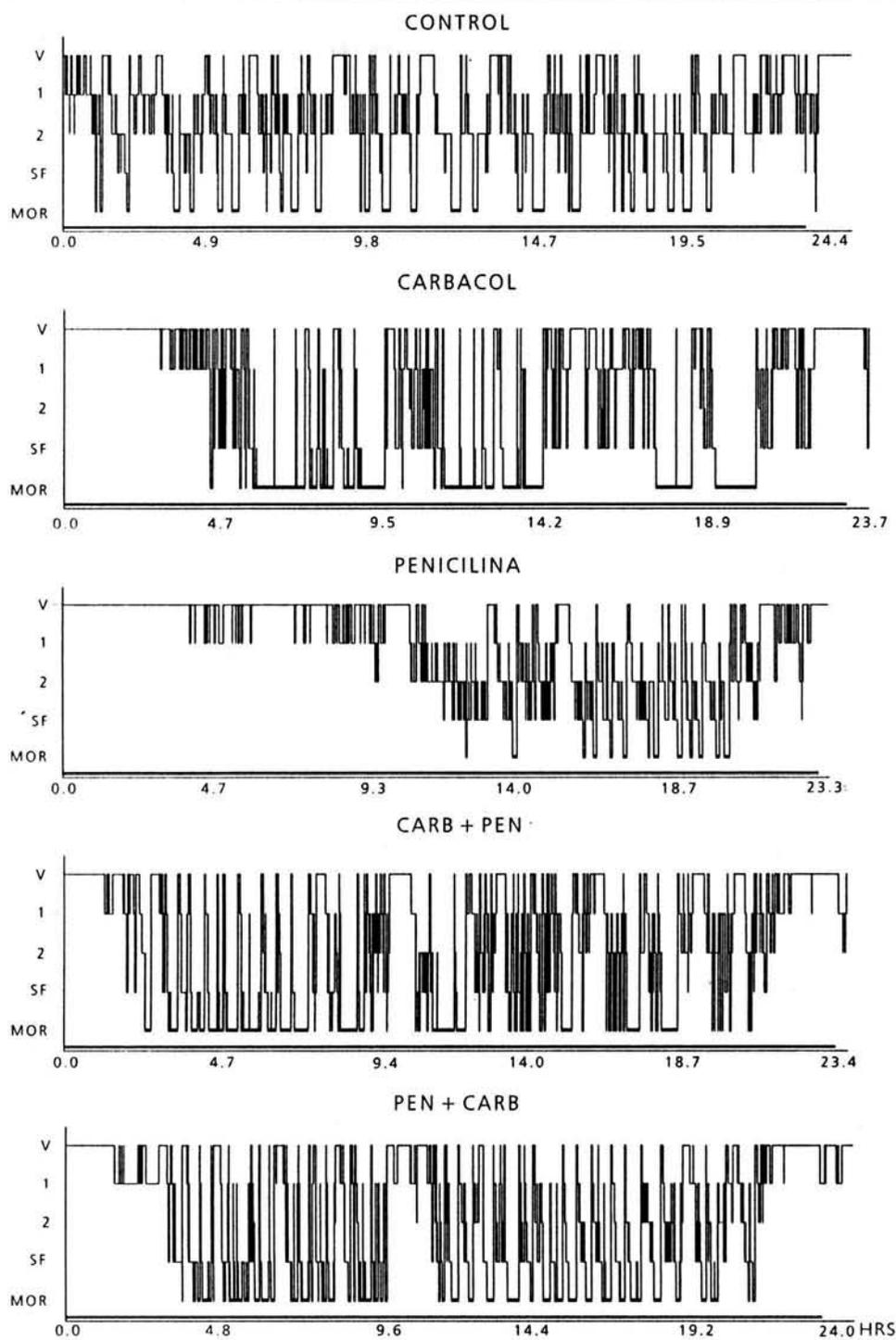


Figura 17. Hipnogramas que muestran las diferencias en la organización del sueño y de la vigilia en las diferentes condiciones experimentales. Nótese los episodios de sueño MOR prolongados durante la aplicación de carbacol, la latencia prolongada al sueño así como la disminución de sueño MOR cuando se aplica la penicilina, en contraste cuando la penicilina se acompaña de carbacol la arquitectura es similar a condiciones control. V, vigilia; 1, fase uno del sueño en ondas lentas; 2, fase dos del sueño en ondas lentas; SF, sueño fásico en ondas lentas, MOR, sueño con movimientos oculares rápidos.

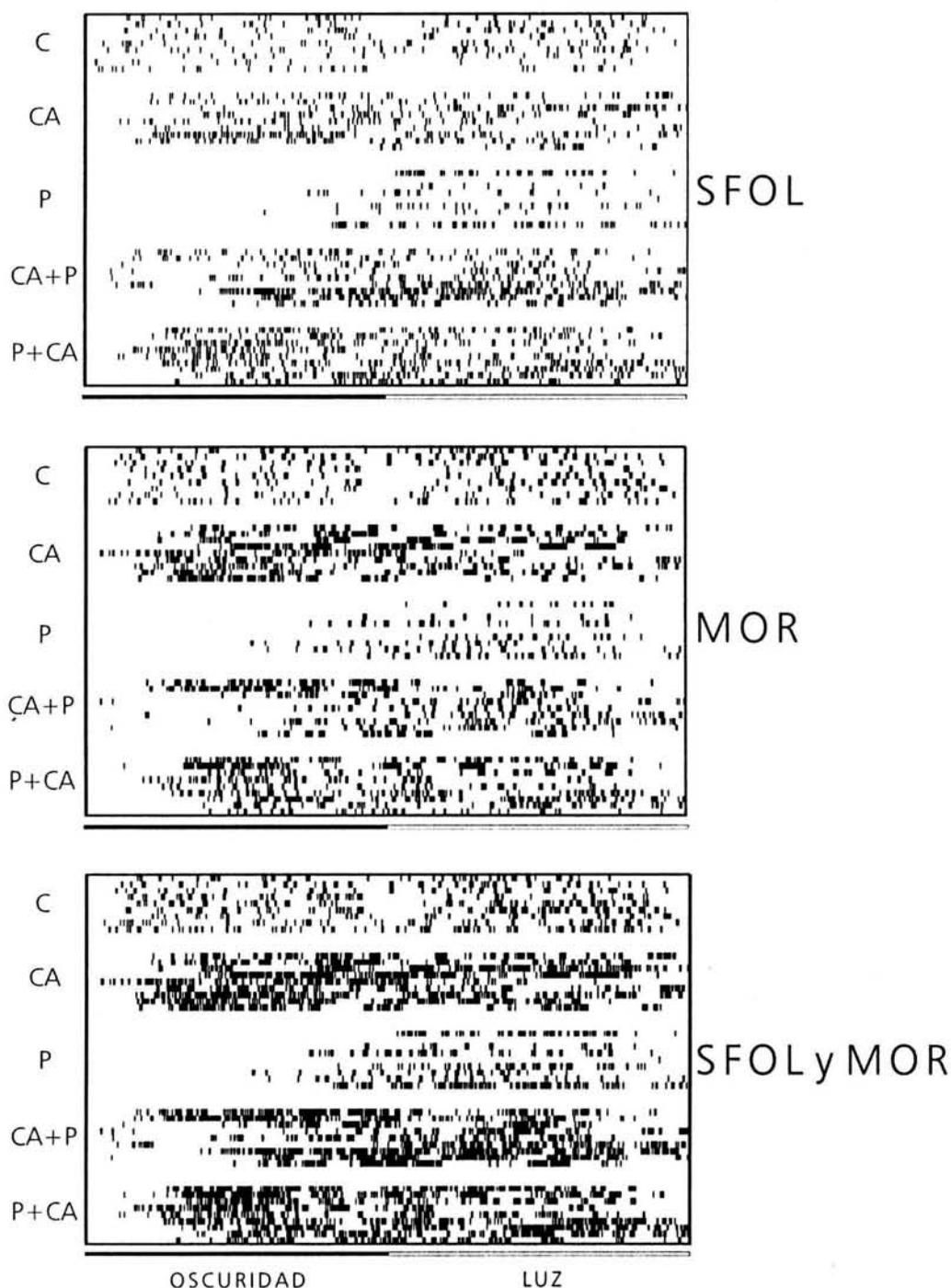


Figura 18. Distribución temporal de los episodios de SFOL y de sueño MOR, a través de las 23 horas de registro poligráfico (abscisas), en las diferentes condiciones experimentales. Las barras negras representan la ocurrencia de los periodos indicados en la parte superior de ambas gráficas. Nótese la disminución de ambas fases del sueño en la situación donde se aplica la penicilina sin carbacil y el aumento de estas fases en la situación de carbacil, además de un aumento importante cuando la penicilina es acompañada de la aplicación de carbacil. Se observan los cambios en la latencia al sueño, sobre todo cuando la aplicación de penicilina no es acompañada de la microinyección de carbacil.

ANÁLISIS HISTOLÓGICO.

Para verificar los sitios de microinyección y los sitios de registro, se utilizó la técnica del procedimiento rápido para localizar electrodos desarrollado por Gúzman-Flores et al., en 1958.

Con esta técnica se logran obtener fotografías de los cerebros de los animales experimentales, después de que se perfunden los animales sus cerebros son mantenidos en formol al 20% durante 15 días, después de este periodo de tiempo los cerebros son congelados y se realizan cortes seriados de 60 micras, por último los cortes son utilizados como negativos en una ampliadora y se logra obtener la fotografía y la localización de los electrodos y canulas implantadas estereotóxicamente.

CUERPO GENICULADO LATERAL

Para el registro de los potenciales PGO se implantaron de manera bilateral electrodos de cinco puntas en el CGL. Como se dijo anteriormente los potenciales PGO son generados en el puente y se propagan hacia estructuras del área visual, de esta manera es como se logran registrar los potenciales PGO en el CGL.

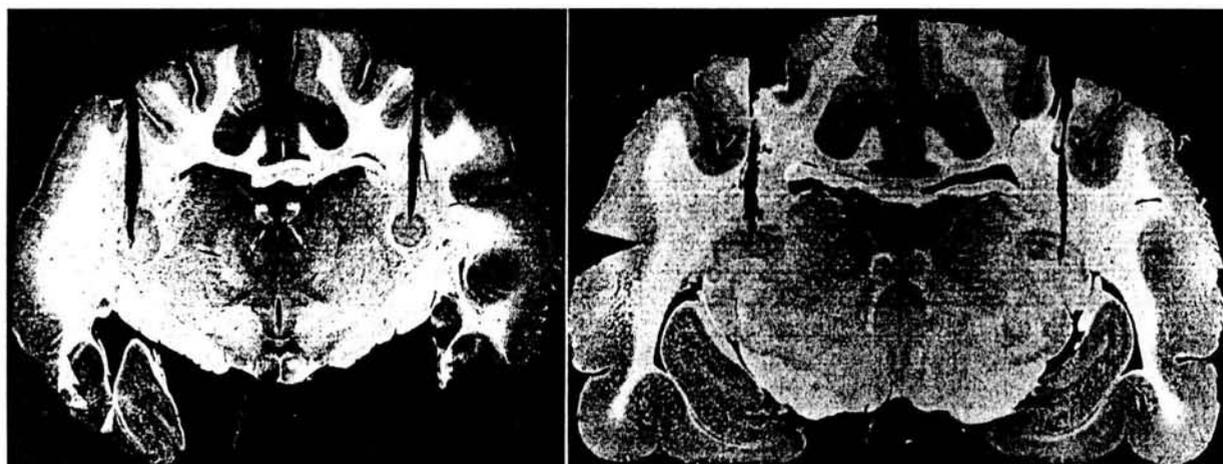


Figura 19. Fotografías que muestran la trayectoria y localización de los electrodos implantados en el CGL.

AMÍGDALA DEL LÓBULO TEMPORAL.

En el caso de la AMG se implantaron dos electrodos para el registro de la actividad eléctrica, además de una cánula para la administración tópica de penicilina en ambas amígdalas. Los electrodos y la cánula quedaron por arriba del núcleo basal para evitar el daño tisular (4mm), las microinyecciones de penicilina se realizaron con un inyector que sobrepasaba por 4mm a dicha cánula. Es importante mencionar que en todos los animales incluidos en este trabajo los electrodos y la cánula se lograron implantar correctamente.



Figura 20. Localización de los electrodos y cánula implantados en la AMG del lóbulo temporal.

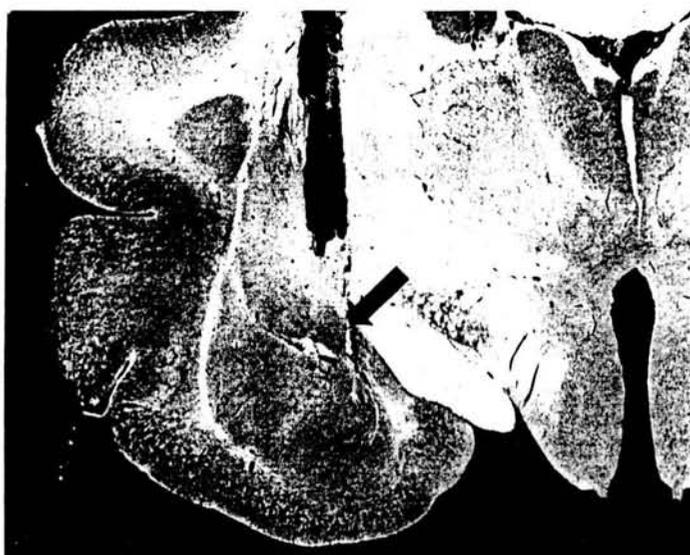


Figura 21. Detalle de la AMG de lóbulo temporal. Nótese la trayectoria del inyector señalada con una flecha.

REGIÓN PARABRAQUIAL.

Para la aplicación de carbacol en el PBL se calibro estereotáxicamente una cánula que quedo 3 mm por arriba del PBL para evitar el daño de dicha estructura, las microinyecciones se realizaron con un inyector que sobresalía 3 mm de la cánula. Esta cánula se implantó con un ángulo de 38 grados, para evitar que el hueso de la tienda del cerebello interfiriera con el paso de la cánula. Cabe mencionar que todos los animales utilizados en este estudio se implantaron correctamente en el PBL.

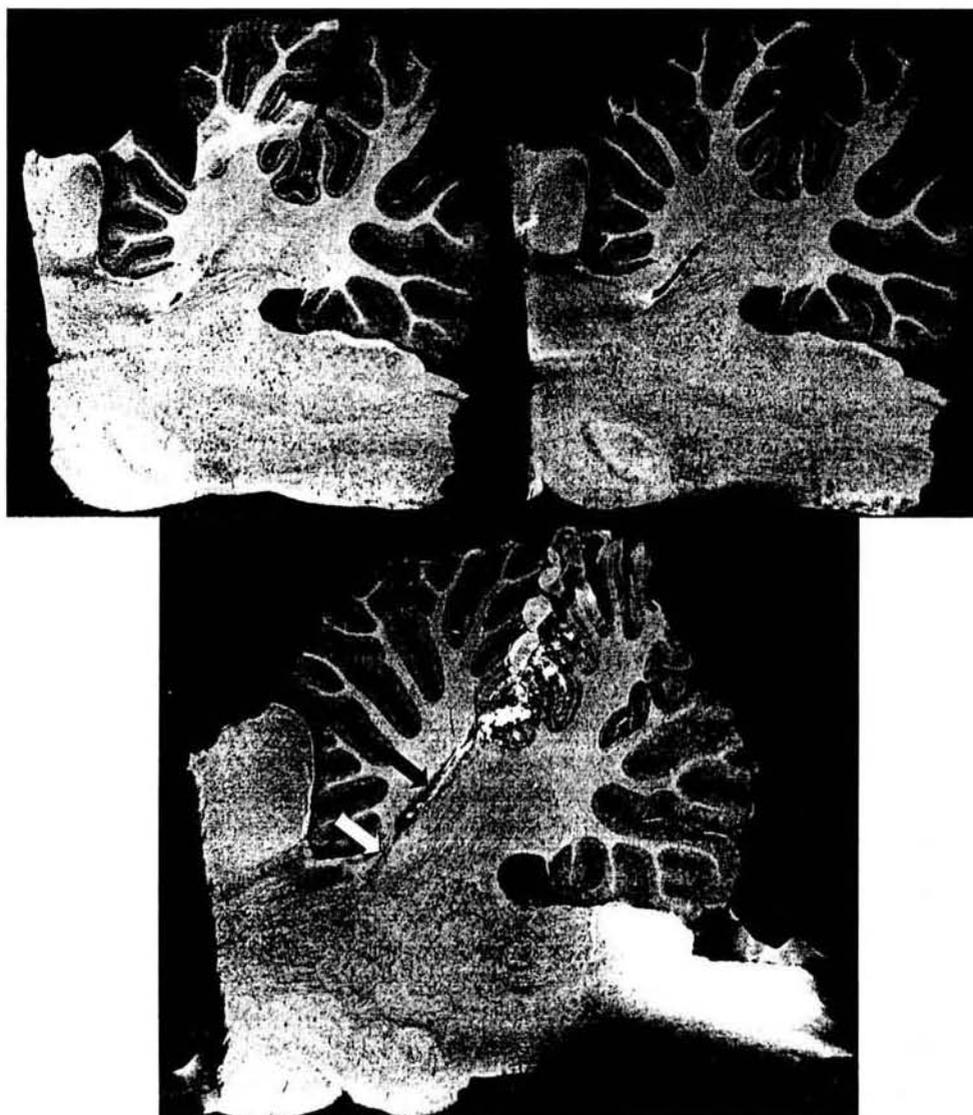


Figura 22. Trayectoria y localización de la cánula implantada en el PBL. Nótese en la imagen inferior la trayectoria de la cánula (flecha negra) y la trayectoria del inyector (flecha blanca).

RESULTADOS CUANTITATIVOS.

El análisis de la frecuencia de las espigas epilépticas cada 30 minutos, durante 9 horas a partir de la aplicación de la penicilina y cuando ésta fue precedida o seguida de la aplicación de carbacol, mostró los siguientes resultados. Las espigas provocadas por la aplicación única de penicilina, mostraron su mayor frecuencia en los primeros 30 minutos, disminuyendo a los 60 minutos y manteniendo una frecuencia constante durante las siguientes 8 horas. Cuando la penicilina fue precedida por la inducción de potenciales PGO, mediante la aplicación de carbacol en la región PBL, la frecuencia de las espigas fue significativamente menor que con la simple penicilina en los primeros 30 minutos. En las siguientes dos horas aumentó y a partir de la tercer hora disminuyó progresivamente, alcanzando valores significativamente menores que los obtenidos con la penicilina sola. Cuando la inducción de las espigas amigdalinas por penicilina, fue seguida de la inducción de potenciales PGO, la frecuencia de las espigas mostró cambios semejantes a los observados en la situación experimental anterior. En los primeros 30 minutos el valor promedio de la frecuencia fue significativamente menor que el valor obtenido con la penicilina sola y a partir de la tercer hora, también comenzó a disminuir progresivamente mostrando valores significativamente más bajos que los mostrados por la penicilina sola (Figura 23).

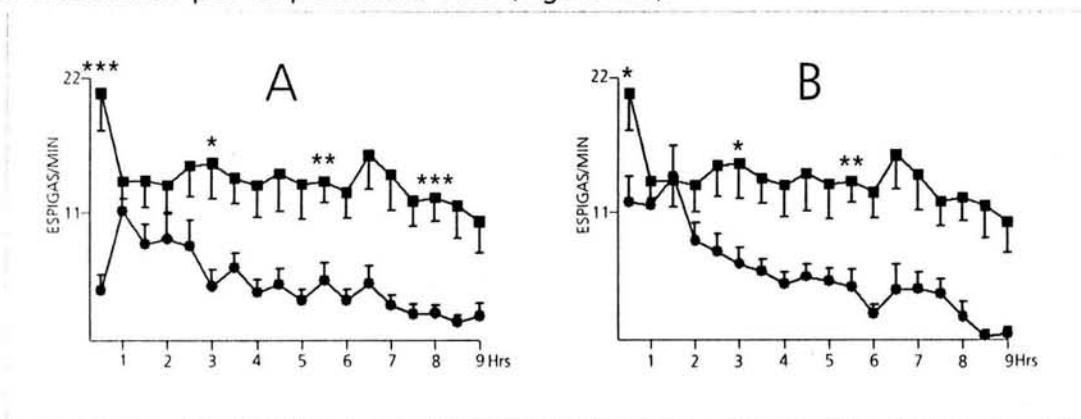


Figura 23. Histogramas de la frecuencia promedio de las espigas epilépticas amigdalinas, cada 30 minutos durante 9 horas. A, valores promedio al aplicar solamente penicilina (cuadrados) y cuando ésta es precedida de la aplicación de carbacol (círculos). B, valores obtenidos con la penicilina (cuadrados) y cuando ésta es seguida de la aplicación del carbacol (círculos). Cada punto de las curvas representan la media \pm el error estándar. Nótese en ambas situaciones experimentales, la disminución progresiva de la frecuencia al inducir potenciales PGO mediante el carbacol. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$.

Con el análisis de las crisis convulsivas generalizadas tónico clónicas (CCGs), provocadas por la administración únicamente de penicilina y de las crisis focales secundariamente generalizadas, provocadas por la administración de la penicilina seguida o precedida de carbacol, se obtuvieron los siguientes resultados.

Además de la menor severidad conductual de las crisis, cuando la penicilina fue precedida o seguida por la inducción de potenciales PGO con carbacol, el número de éstas fue significativamente menor que el de las CCGs provocadas por la aplicación única de penicilina. Asimismo, su duración promedio fue menor que la de las CCGs, alcanzando valores significativamente más bajos cuando la penicilina fue precedida por el carbacol (Figura 24).

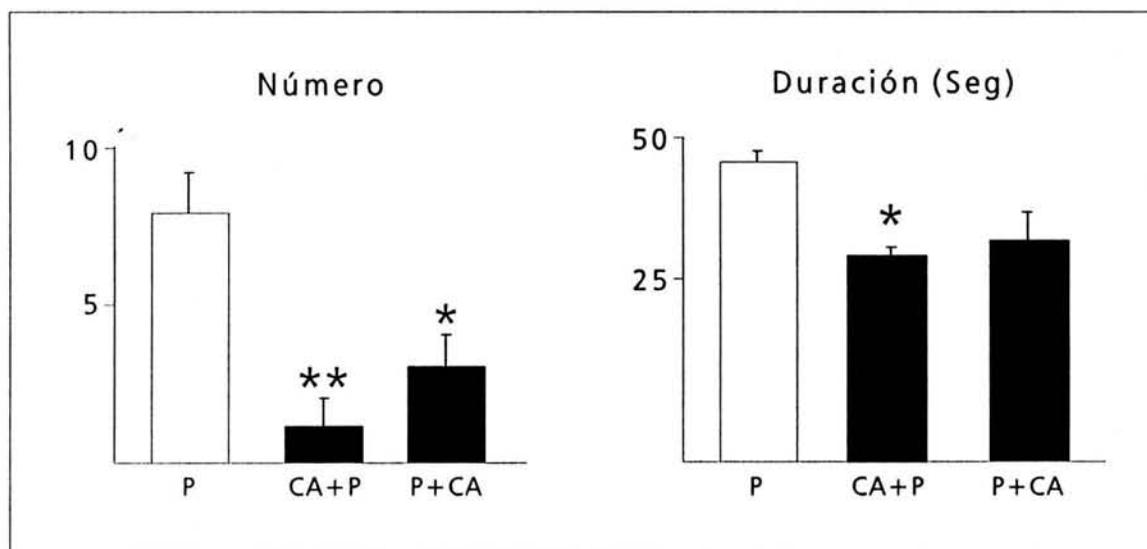


Figura 24. Número y duración promedio de crisis convulsivas generalizadas, en la 23 horas de registro poligráfico de sueño. Cada barra representa la media \pm el error estándar. P, aplicación única de penicilina; CA+P, aplicación del carbacol antes de la penicilina; P+CA, aplicación de penicilina antes del carbacol. * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$.

Los resultados también muestran que el tiempo transcurrido para que ocurra la primer crisis cuando se aplica únicamente penicilina, es de 44.5 ± 10.5 minutos. En cambio, cuando se inducen los potenciales PGO antes de la aplicación de penicilina, las crisis aparecen en un tiempo significativamente mayor (más del doble) (128 ± 52.0 minutos; $p < 0.05$) que cuando se aplica únicamente la penicilina. Cuando la aplicación

del foco epileptógeno amigdalino precede a la inducción de potenciales PGO, el tiempo para que ocurra la primer crisis también es mayor (77.0 ± 41.0 minutos) que con la aplicación única de penicilina.

Con el análisis de la organización temporal y la tasa diaria de los estados de vigilia y sueño, se obtuvieron los siguientes resultados.

Las latencias a la instalación del sueño (ocurrencia del primer episodio de Fase 1) y al sueño MOR, mostraron los siguientes cambios de acuerdo a las diferentes situaciones experimentales. La instalación del sueño se retrasó significativamente con las administraciones únicas de carbacol o de penicilina, y cuando la administración de la penicilina fue seguida de la aplicación de carbacol. El valor más alto fue alcanzado con la administración única de penicilina y las latencias cuando se administró únicamente el carbacol, así como las latencias cuando la penicilina fue precedida o seguida del carbacol, mostraron valores significativamente menores a los obtenidos con la administración única de penicilina. La latencia al primer episodio de sueño MOR, es significativamente mayor que el control, al aplicar únicamente penicilina y cuando ésta es precedida o seguida del carbacol. El valor máximo también fue alcanzado con la administración única de penicilina y los valores obtenidos en las demás situaciones experimentales fueron significativamente menores que los obtenidos con la aplicación de penicilina (Figura 25).

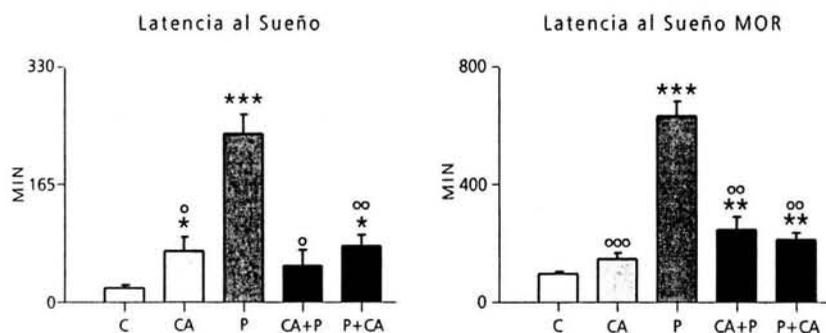


Figura 25. Valores promedio de las Latencias al Sueño y al Sueño MOR. Cada barra representa la media \pm el error estándar. C, control; CA, aplicación única de carbacol; P, aplicación única de penicilina; CA+P, aplicación de carbacol seguida por la de penicilina; P+CA, aplicación de penicilina seguida por la de carbacol. * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.0001$ al compararse con el control; O $p < 0.05$; OO $p < 0.005$; OOO $p < 0.0001$; al compararse con la penicilina.

El porcentaje del estado de vigilia aumentó significativamente cuando se administró únicamente carbacol o penicilina. Cuando se combinó la administración de estas sustancias, el porcentaje de vigilia mostró valores semejantes al control. El aumento del porcentaje de vigilia, se debió a que su duración promedio tendió a aumentar (Figura 26).

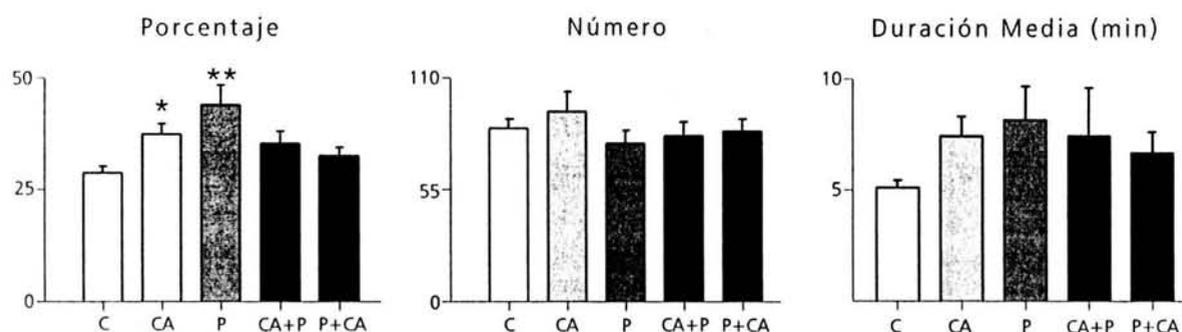


Figura 26. Valores promedio del porcentaje, número y duración promedio de las fases de Vigilia, en las 23 horas de registro poligráfico. de la fase de Vigilia, en todas las situaciones experimentales. Cada barra representa la media \pm el error estándar. Nótese el aumento significativo del porcentaje de vigilia por la aplicación de carbacol o penicilinas y que cuando se inducen potenciales PGO junto con las descargas epilépticas, los valores del porcentaje son semejantes a los del control. * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$. Abreviaturas como en la Figura 25.

La Fase 1 del sueño en ondas lentas no tuvo cambios significativos en su porcentaje, su número promedio de episodios disminuyó significativamente en todas las situaciones experimentales, en comparación con los valores del control, pero su duración promedio mostró una tendencia al aumento (Figura 27).

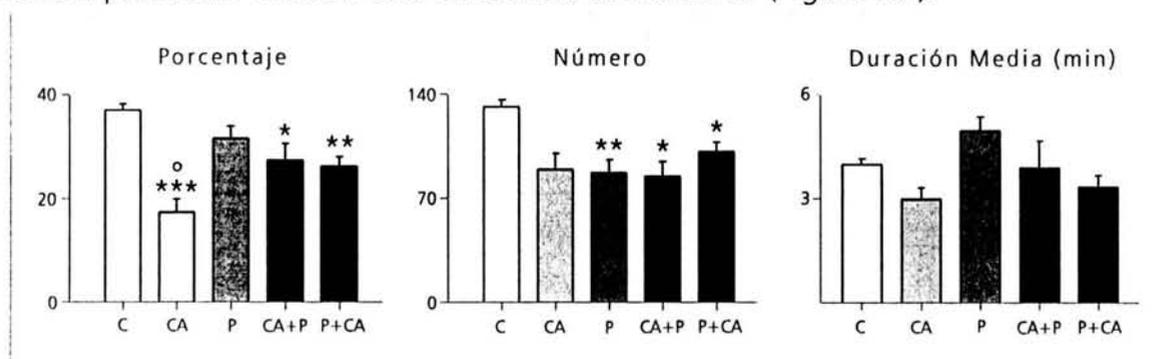


Figura 27. Histograma que muestra los valores promedio del porcentaje, el número y la duración promedio de los episodios de Fase 1, en las diferentes situaciones experimentales. Cada barra representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$. Abreviaturas, como en la Figura 25.

La latencia en minutos a la Fase 2 del sueño en ondas lentas, mostró diferencias significativas entre los valores promedio del control (43.24 ± 4.8 , EE) y el aumento de ésta en las situaciones de penicilina sola (339.75 ± 34.5 , EE, $p < 0.0001$), carbacol seguido de penicilina (288.22 ± 64.8 , EE, $p < 0.05$) y la penicilina seguida del carbacol (253.75 ± 31.6 , EE, $p < 0.0001$). El porcentaje de esta fase del sueño disminuyó significativamente con la administración única de carbacol y cuando éste fue precedido o seguido por la aplicación de penicilina. El número promedio de la Fase 2 disminuyó significativamente con la administración única de penicilina y cuando ésta fue precedida o seguida del carbacol. La duración promedio de esta fase del sueño no mostró cambios significativos (Figura 28).

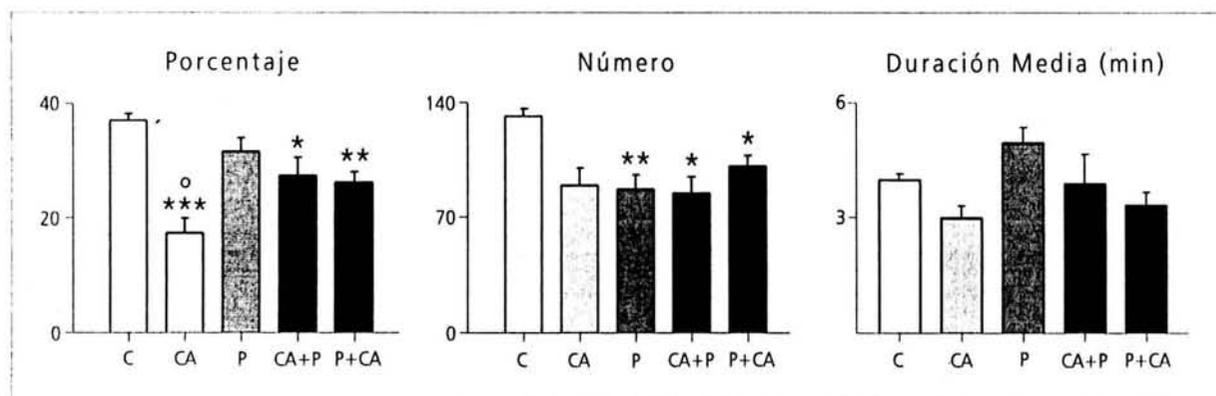


Figura 28. Histograma que muestra los valores promedio del porcentaje, el número y la duración promedio de los episodios de la Fase 2 del sueño, en las diferentes situaciones experimentales. Cada barra representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$, al compararse con el control. \circ $p < 0.05$, al compararse con CA+P. Abreviaturas, como en la Figura 25.

El análisis de las latencias de los episodios de SFOL mostró que en comparación con los valores control (63.5 ± 6.8 , EE), hubo un aumento significativo de su latencia al aplicar únicamente carbacol (172.4 ± 23.8 , EE, $P < 0.05$), con la aplicación única de penicilina (591.7 ± 51.0 , EE, $P < 0.0001$) y cuando se aplicó la penicilina seguida de carbacol (175.3 ± 20.7 , EE, $p < 0.005$). A su vez, al compararse con los valores promedio de la penicilina sola (591.7 ± 51.0 , EE), se observaron valores significativamente más bajos con la aplicación única del carbacol (172.4 ± 23.8 , EE, $P < 0.005$)

cuando el carbacol fue seguido de penicilina (156.4 ± 40.3 , EE. $p < 0.005$), cuando la penicilina fue seguida del carbacol (175.3 ± 20.7 , EE. $p < 0.001$).

Los episodios de SFOL mostraron el aumento de su porcentaje con la aplicación única de carbacol, cuando éste fue seguido de la penicilina y cuando la penicilina fue seguida de carbacol el porcentaje fue significativamente mayor que en la situación control y significativamente mayor que con la aplicación única de penicilina. El número de episodios de SFOL disminuyó significativamente con la administración única de penicilina, pero cuando ésta fue seguida de carbacol, el número de episodios fue significativamente mayor que en esta situación e incluso mayor que con la aplicación única del carbacol. La duración media de estos episodios no mostró cambios significativos (Figura 29).

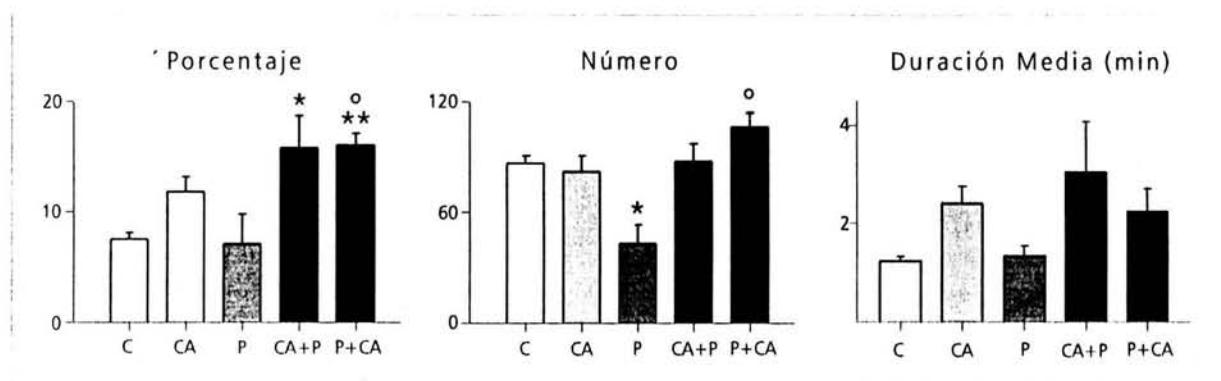


Figura 29. Histograma que muestra los valores promedio del porcentaje, el número y la duración promedio de los episodios de SFOL, en las diferentes situaciones experimentales. Cada barra representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.05$; ** $p < 0.0001$, en comparación con el control. ^o $p < 0.05$, en comparación con la aplicación única de penicilina y de carbacol. Abreviaturas, como en la Figura 25.

Los resultados obtenidos al analizar el sueño MOR, mostraron que su porcentaje aumentó significativamente en comparación con el control, al aplicar únicamente carbacol y cuando la aplicación de penicilina fue seguida por la aplicación del carbacol. Con la aplicación única de penicilina, el porcentaje de MOR fue significativamente menor que en la situación control, pero los porcentajes cuando la penicilina fue precedida o seguida por el carbacol, fueron significativamente más altos que con la

penicilina sola. Por otra parte, el porcentaje del sueño MOR también fue significativamente más alto con el carbacol solo que con la penicilina sola. Los cambios en el porcentaje del sueño MOR se debieron a cambios significativos del número de sus episodios, que fueron en el mismo sentido que los del porcentaje. La duración promedio de los episodios del sueño MOR no mostró cambios significativos (Figura 30).

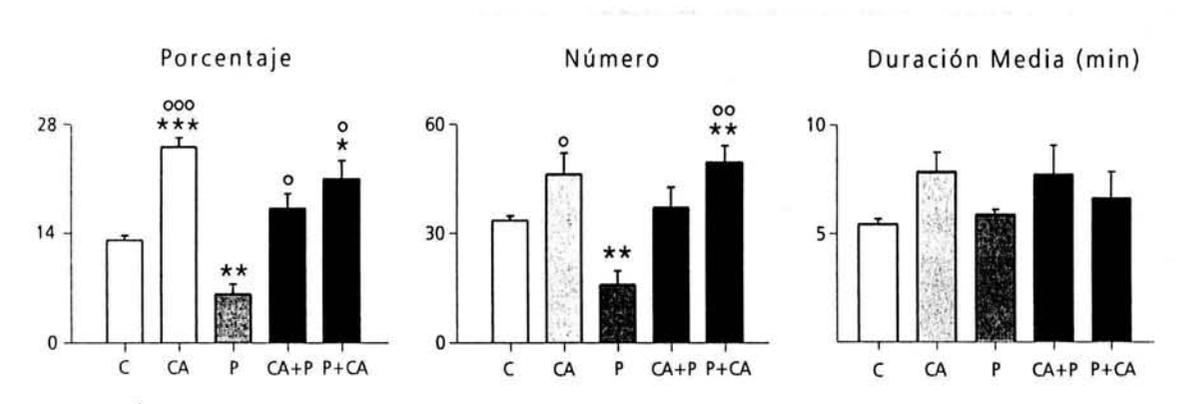


Figura 30. Histograma que muestra los valores promedio del porcentaje, el número y la duración promedio de los episodios de Sueño MOR, en las diferentes situaciones experimentales. Cada barra representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.0001$, en comparación con el control. o $p < 0.05$; oo $p < 0.005$; ooo $p < 0.0001$, en comparación con la penicilina única. Abreviaturas, como en la Figura 25.

El análisis del curso temporal de la tasa del sueño MOR a través de las 23 horas de los registros poligráficos del sueño, mediante la acumulación horaria del tiempo gastado en esta fase del sueño, mostró los siguientes resultados.

Mientras que en la situación control la acumulación del sueño MOR mostró un aumento progresivamente constante, con la aplicación única de carbacol la acumulación del MOR mostró un aumento significativamente mayor que el control, a partir de la quinta hora de la aplicación de esta sustancia. En cambio, la administración única de penicilina hizo que la acumulación fuera significativamente menor que el control, a partir de la segunda hora de su aplicación (Figura 31-A).

Por otra parte, es importante hacer notar que cuando la aplicación de penicilina fue seguida o precedida por la aplicación de carbacol, para la inducción de potenciales

PGO, la acumulación de sueño MOR fue significativamente mayor que en el control, a partir de la sexta hora de la aplicación de penicilina seguida del carbacol. Con la aplicación de carbacol seguido por la de penicilina, la acumulación del sueño MOR siempre fue mayor que en el control alcanzando valores significativamente más altos hacia las últimas cinco horas del registro poligráfico (Figura 31-B). Los valores alcanzados con la combinación de penicilina y carbacol, también fueron significativamente mayores que con la aplicación única de penicilina. A partir de una hora después de la penicilina seguida por el carbacol y durante las siguientes 22 horas de registro, la acumulación de sueño MOR fue significativamente ($p < 0.0001$) mayor que con la aplicación única de penicilina. De manera semejante, a partir de la tercer hora de la aplicación de carbacol seguida por la de penicilina, la acumulación de sueño MOR alcanzó valores significativamente ($p < 0.05$) mayores que cuando se aplicó únicamente penicilina. Esta diferencia siguió en incremento, alcanzando valores aun más significativos hacia la decimosegunda ($p < 0.005$) y decimonovena ($p < 0.0001$) horas del registro poligráfico.

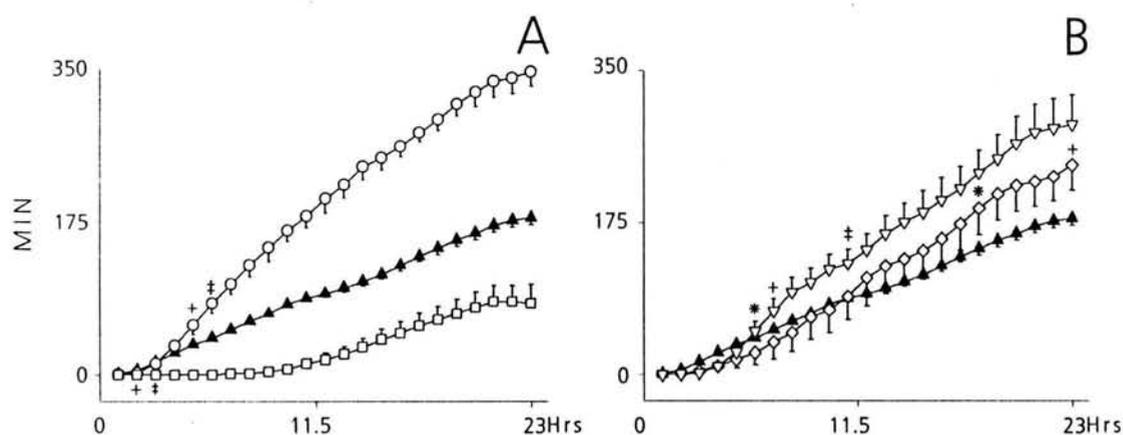


Figura 31. A, valores promedio de la acumulación horaria del tiempo gastado en el sueño MOR, a través de las 23 horas de registro poligráfico, en situaciones de control (triángulos negros), de la aplicación única de carbacol (círculos) y de la aplicación única de penicilina (cuadrados). B, acumulación promedio del sueño MOR en situaciones de control (triángulos negros), de la aplicación de penicilina seguida por la aplicación de carbacol (triángulos blancos) y de la aplicación de carbacol seguida por la penicilina (rombos). Cada punto representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.05$; + $p < 0.005$; ‡ $p < 0.0001$, en comparación con el control.

Los resultados obtenidos al analizar la densidad de los potenciales PGO durante el sueño MOR y los episodios de SFOL, mostraron que en comparación con el control y con la aplicación única de penicilina, la densidad de estos potenciales aumentó significativamente, al aplicar únicamente carbacol y cuando éste fue precedido o seguido por la aplicación de penicilina. Los resultados también mostraron que la aplicación única de penicilina provocó la disminución significativa de la densidad de potenciales PGO durante el sueño MOR (Figura 32).

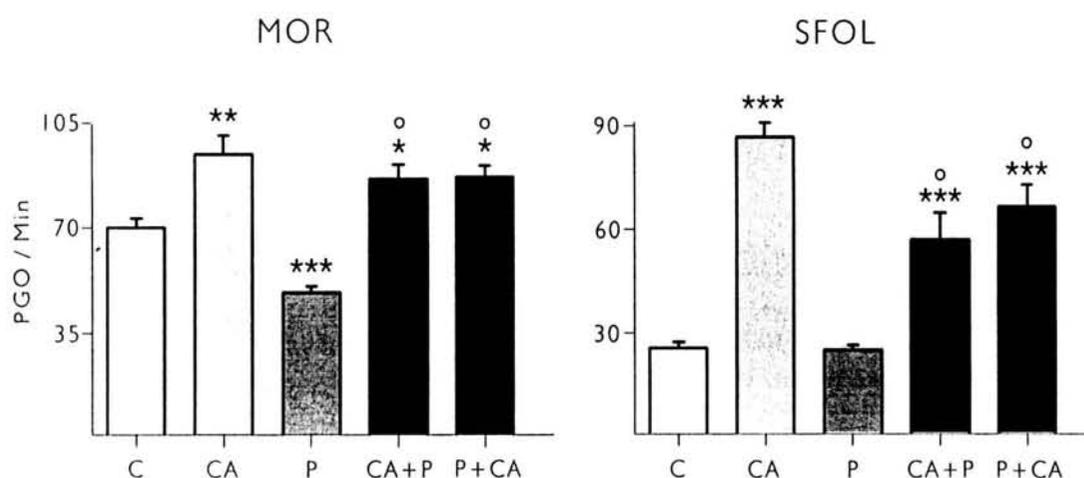


Figura 32. Histogramas que representan la Densidad promedio de potenciales PGO (PGO / Min), durante los episodios de sueño MOR y de SFOL, en las diferentes situaciones experimentales. Cada barra representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.0001$ en comparación con el control. \circ $p < 0.0001$, en comparación con la aplicación única de penicilina. Abreviaturas, como en la Figura 25.

El análisis de los cambios en el patrón de ocurrencia de los potenciales PGO, mediante el cálculo de la densidad (número / minuto) de los diferentes tipos (simples o en salvas) de potenciales PGO durante los episodios de SFOL y del sueño MOR, mostró los siguientes resultados.

En los episodios de SFOL, solamente los potenciales simples mostraron valores significativamente menores que el control, cuando la aplicación de penicilina fue seguida por la de carbacol. En cambio, la densidad de los potenciales dobles y los

organizados en salvas de tres potenciales, alcanzaron valores significativamente mayores que el control, cuando se aplicó únicamente carbacol y cuando éste fue seguido por la aplicación de penicilina (Figura 33).

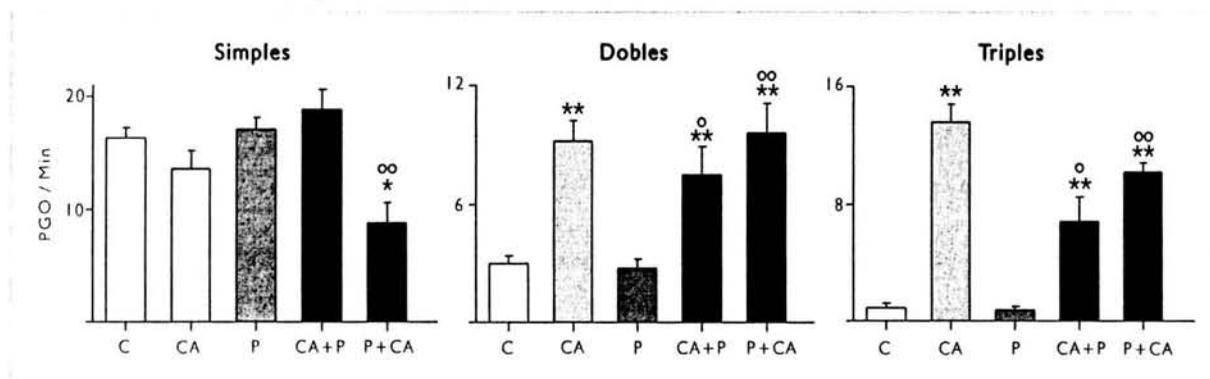


Figura 33. Histogramas que representan la densidad promedio de los potenciales PGO simples, dobles y triples, durante los episodios de SFOL y en las diferentes situaciones experimentales. Cada barra representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.005$; ** $p < 0.0001$, en comparación con el control; O $p < 0.005$; OO $p < 0.0001$, en comparación con la aplicación única de penicilina. Abreviaturas, como en la Figura 25.

Durante los episodios de sueño MOR, la densidad de potenciales PGO simples disminuyó significativamente con las aplicaciones únicas de carbacol y penicilina. Con la aplicación de carbacol seguida por la de penicilina, ésta densidad tendió a disminuir de acuerdo a los valores control, pero a su vez, fue significativamente mayor que con la aplicación única de penicilina. En cambio, la densidad de los potenciales dobles fue significativamente mayor que en situaciones de control, cuando se aplicó únicamente carbacol y cuando éste fue precedido o seguido por la penicilina. La densidad de los potenciales dobles fue disminuida significativamente por la aplicación única de penicilina. Por otro lado, la densidad de las salvas de tres, cuatro, cinco y seis o más potenciales PGO, generalmente mostraron valores significativamente mayores que el control, cuando se aplicó únicamente el carbacol y cuando éste fue seguido o precedido por la aplicación de penicilina. Sin embargo, aunque las salvas constituidas por cuatro, cinco y las de seis o más potenciales no mostraron cambios significativos en comparación con el control, si alcanzaron valores significativamente mayores que con la aplicación única de penicilina. Es importante subrayar que las salvas constituidas por

tres, cuatro, cinco y seis o más potenciales PGO, no fueron disminuidas significativamente por la aplicación única de la penicilina (Figura 34).

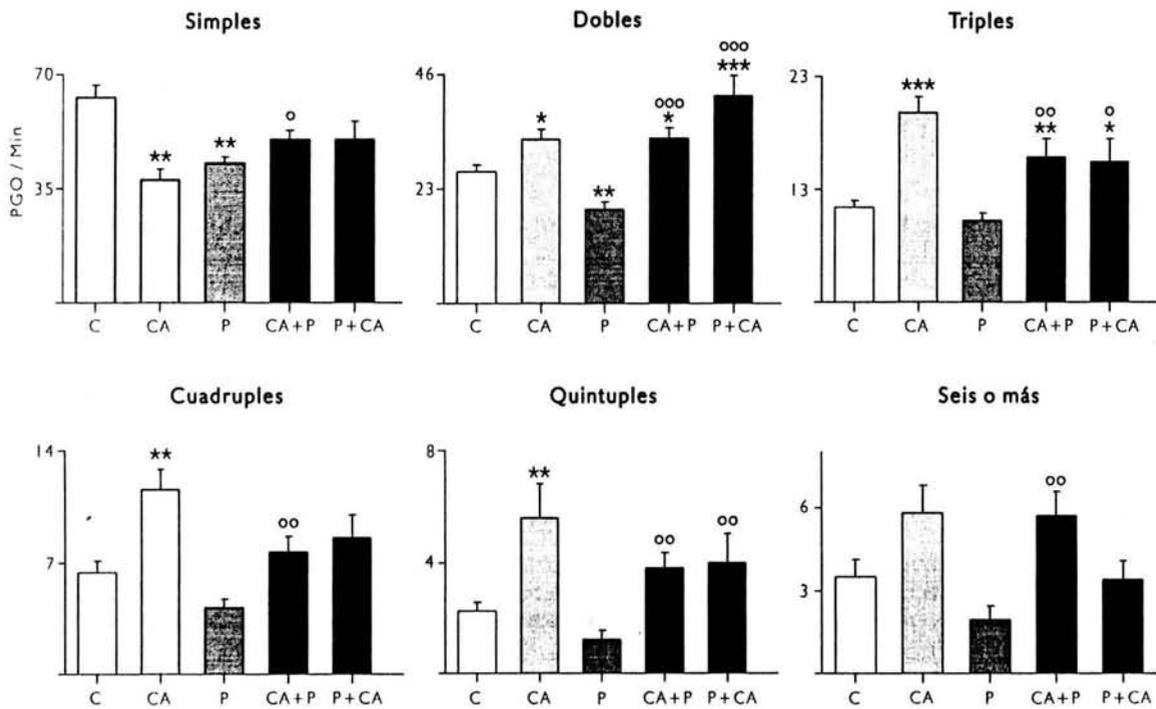


Figura 34. Histogramas que representan la densidad promedio de los potenciales PGO simples, dobles, y los organizados en salvas de tres, cuatro, cinco y seis o más potenciales, durante los episodios de sueño MOR y en las diferentes situaciones experimentales. Cada barra representa la media \pm el error estándar. * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.0001$, en comparación con el control; ^o $p < 0.05$; ^{oo} $p < 0.005$; ^{ooo} $p < 0.0001$, en comparación con la aplicación única de penicilina. Nótese que los valores promedio de la densidad de salvas de potenciales PGO, siempre son mayores con la aplicación combinada de penicilina y carbacol, que con la aplicación única de penicilina. Abreviaturas, como en la Figura 25.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de trabajo del presente estudio, que postula que los potenciales PGO independientes de los estados del sueño, tienen un efecto inhibitorio sobre la epileptogénesis y el establecimiento de crisis convulsivas generalizadas.

Por otra parte, el desarrollo del presente estudio permitió corroborar que la aplicación de carbacol en la región PBL, provoca la ocurrencia de potenciales PGO independientes de los estados del sueño (Datta et al., 1992; Datta et al., 1991) y además, permitió determinar con mayor precisión, que este fenómeno dura de 18 a 20 horas, tiempo en el que comienzan a disminuir. El obtener este dato fue posible gracias a los registros poligráficos del sueño de 23 horas. Además, el diseño experimental de la presente investigación permitió hacer evidente, que la inducción de potenciales PGO independientes, es un método útil para analizar las probables funciones de los estos potenciales y distinguirlas de las del sueño MOR como un estado fisiológico global. De esta manera fue posible mostrar, por primera vez, que los potenciales PGO por si mismos, tienen un efecto inhibitorio sobre la epileptogénesis y el establecimiento de crisis convulsivas.

El presente estudio también permitió corroborar que la aplicación tópica de penicilina G-sódica en el núcleo basolateral de la amígdala, constituye un modelo experimental de epilepsia que permite analizar la evolución de los fenómenos electrofisiológicos y las manifestaciones conductuales que ocurren durante la epileptogénesis y el establecimiento de crisis convulsivas generalizadas (Fernández-Guardiola et al., 1991; Fernández-Guardiola et al., 1995).

Los resultados que muestran el efecto inhibitorio de los potenciales PGO independientes, sobre la epileptogénesis y la instalación de crisis convulsivas generalizadas, son los siguientes:

Durante las primeras cuatro horas a partir de la inducción de los potenciales PGO, ya sea antes o después de inducir la epileptogénesis amigdalina, estos potenciales ocurren de manera sostenida e independientes de los episodios de sueño MOR. Concomitantemente, se observó que las espigas epilépticas amigdalinas son de menor voltaje, que no se propagan hacia otras regiones cerebrales y que su frecuencia es significativamente menor que la frecuencia de las espigas provocadas por la administración única de penicilina. Los registros poligráficos también muestran que las espigas y descargas epilépticas, nunca ocurren durante uno a dos segundos antes o después de la ocurrencia de los potenciales PGO. También se observó que las espigas no estuvieron asociadas con las manifestaciones motoras que normalmente las acompañan. Es importante señalar que en este periodo de tiempo los episodios de sueño MOR aun no ocurren, debido al aumento significativo de su latencia de aparición. Por lo tanto, el efecto inhibitorio sobre las descargas epilépticas y sus componentes motores en estas primeras horas, solo puede deberse a la ocurrencia sostenida de los potenciales PGO.

Durante las siguientes horas, los episodios de sueño MOR comenzaron a ocurrir, alcanzando porcentajes significativamente más altos que en la situación control, solamente cuando la aplicación de penicilina fue seguida de la inducción de potenciales PGO. En cambio, la densidad de los potenciales PGO alcanzó valores significativamente mayores que el control, en las dos situaciones experimentales donde la inducción de la actividad epiléptica amigdalina fue seguida o precedida por la inducción de potenciales PGO. Además, es importante señalar que durante 18 a 20 horas los potenciales PGO ocurrieron ininterrumpidamente. Estos resultados sugieren que el efecto inhibitorio de la actividad epiléptica observado en el presente estudio, se debe predominantemente a los potenciales PGO. Esta idea también se apoya en los resultados que a continuación se mencionan.

Los trazos poligráficos llevados a cabo en el presente estudio, mostraron que durante los episodios de sueño MOR, la ocurrencia de descargas epilépticas es abolida y éstas vuelven a presentarse en los intervalos entre cada episodio de esta fase del

sueño. Este fenómeno es más evidente cuando únicamente se induce la epilepsia amigdalina, en los intervalos entre cada episodio de sueño MOR las descargas epilépticas siempre van en aumento, hasta que culminan en crisis convulsivas generalizadas. Es importante mencionar que cuando la inducción de la epilepsia es precedida por la inducción de potenciales PGO, las descargas epilépticas y las crisis que pudieron presentarse, ya no ocurren después de 5 horas y que en este tiempo, los episodios de sueño MOR apenas comienzan a ocurrir. Asimismo, cuando la inducción de la epilepsia es seguida por la inducción de potenciales PGO, la actividad epiléptica dura 9 horas, tiempo en el cual, los episodios de sueño MOR ya están presentes y su cantidad está discretamente por arriba del control. En cambio, cuando solamente se aplica la penicilina las descargas siguen presentándose hasta 24 horas después. En esta situación experimental el sueño MOR y la densidad de potenciales PGO disminuyen significativamente, pero durante los episodios de sueño MOR que se presentan, las descargas epilépticas también son abolidas. Lo anterior indica que el sueño MOR inhibe a la actividad epiléptica de manera transitoria y que la ocurrencia sostenida de los potenciales PGO independientes, tiene un efecto inhibitorio sostenido y más robusto sobre la actividad convulsiva.

En otra serie de experimentos, se demostró que la inducción de potenciales PGO mediante la activación colinérgica de la región PBL por la aplicación de carbacol, es un fenómeno duradero donde la ocurrencia de potenciales PGO por 18 a 20 horas, es seguida del aumento de sueño MOR durante 6 días (Calvo et al., 1992). Este fenómeno que se sostiene por más de 24 horas, probablemente explica que el efecto inhibitorio sobre la actividad epiléptica, ejercido por los potenciales PGO independiente, sea mayor que el efecto transitorio del sueño MOR. Sin embargo, es importante considerar que los potenciales PGO independientes del sueño MOR, son fenómenos electrofisiológicos breves (150 a 200 milisegundos) que pueden provocar la inhibición intermitente del sitio de origen de la actividad epiléptica y que la abolición sostenida de la actividad epiléptica durante los episodios de sueño MOR, no solamente implica a los potenciales PGO, sino que también incluye la participación de otros componentes electrofisiológi-

cos o neurohumorales de esta fase del sueño, que aún no han sido identificados.

Otros resultados que también apoyan el efecto inhibitorio de los potenciales PGO sobre la actividad epiléptica, es el tiempo transcurrido para que aparezca la primer crisis convulsiva. Cuando se aplicó únicamente la penicilina, las crisis se presentaron en promedio a los 44.5 minutos y cuando la aplicación de penicilina fue precedida por la inducción de los potenciales PGO, la presentación de las crisis se retrasó significativamente a más del doble de tiempo (128 minutos). Además, el número y duración promedio de las crisis fueron significativamente menores que los de las crisis provocadas por la penicilina sola.

Por otra parte, las crisis convulsivas generalizadas provocadas por la aplicación única de penicilina, cumplen con los componentes electrográficos y motores para clasificarlas como tal, es decir, las descargas aparecen súbita y simultáneamente en todas las estructuras, los animales pierden el estado de conciencia y presentan contracciones musculares tónicas y clónicas de los cuatro miembros. En cambio, cuando la inducción de la epilepsia amigdalina fue seguida o precedida de la inducción de potenciales PGO, las crisis solo tienen los componentes poligráficos para clasificadas como crisis focales secundariamente generalizadas. Se inician en la amígdala donde se aplicó la penicilina, aumentan progresivamente de voltaje y hasta 8 o 10 segundos después, se propagan hacia las demás regiones cerebrales. Además, los animales no pierden el estado de conciencia y los componentes motores correspondientes a este tipo de crisis están ausentes.

El retraso en la aparición de las crisis y el hecho de que los animales no manifestaron las expresiones motoras que generalmente las acompañan, probablemente se explican por el retraso en la propagación de las espigas amigdalinas hacia otras regiones cerebrales y por la menor amplitud y frecuencia de éstas, durante la ocurrencia sostenida de potenciales PGO. Otro fenómeno que puede explicar parcialmente la ausencia de las manifestaciones motoras que acompañan a las descargas epiléptica, es la atonía muscular unilateral que presentan los animales con la aplicación de carbacol en la región PBL. Pero esta atonía es solamente en los

músculos de las extremidades ipsilaterales al sitio de la microinyección de carbacol y no aparece en los músculos del cuello y de la cara, donde comúnmente también se expresan movimientos relacionados con las descargas epilépticas. Además, esta atonía solamente dura de 40 a 60 minutos a partir de la aplicación del carbacol, por lo que no puede estar inhibiendo las manifestaciones motoras en las siguientes horas, que es cuando los fenómenos motores son más severos.

En estudios experimentales previos, donde se analizó la evolución del *Kindling* amigdalino, al aplicar los estímulos eléctricos durante una salva de potenciales PGO del sueño MOR, también se encontró que las espigas epilépticas tardaron en aumentar de voltaje y en propagarse hacia otras regiones cerebrales, dando como resultado el retraso significativo de la evolución del *Kindling*. Estos resultados permitieron entonces proponer, que los potenciales PGO del sueño MOR juegan un papel importante en el retraso de la epileptogénesis amigdalina (Calvo et al., 1982; Calvo 1991). Sin embargo, en este estudio no fue posible descartar la probable participación del sueño MOR en el retraso de la epileptogénesis, ya que los estímulos fueron aplicados durante los potenciales PGO que ocurren en esta fase del sueño. Los resultados del presente estudio apoyan importantemente dicha hipótesis, ya que permitieron mostrar que los potenciales PGO por si mismos, tienen un efecto inhibitorio sobre la evolución y el establecimiento de las crisis convulsivas.

Con el análisis poligráficos del sueño de pacientes que padecen de epilepsia del lóbulo temporal, se ha mostrado que cuando llegan a presentarse descargas epilépticas durante el sueño MOR, estas se restringen al foco primario, impidiéndose así la instalación de crisis convulsivas generalizadas durante esta fase del sueño (Montplaisir et al., 1982; Montplaisir et al., 1985). Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que los fenómenos fásicos del sueño MOR, como los potenciales PGO, pueden participar en la inhibición de la propagación de las crisis epilépticas durante el sueño MOR.

En los estudios pioneros sobre los mecanismos de inhibición de la actividad convulsiva, Fernández-Guardiola et al., 1961 y Fernández-Guardiola y Ayala 1971

mostraron que la estimulación eléctrica de la formación reticular del tallo cerebral, detiene el curso de las crisis convulsivas generalizadas. Asimismo, estos autores mostraron la ocurrencia de movimientos oculares rápidos y una atonía muscular hacia el final y durante la extinción de las crisis convulsivas. Estas observaciones permitieron destacar la presentación de signos poligráficos del sueño MOR hacia el final de las crisis convulsivas y a su vez, permitieron a los autores proponer que los mecanismos generadores del sueño MOR, son semejantes a los mecanismos cerebrales para la extinción de la actividad convulsiva.

El efecto inhibitorio de los potenciales PGO sobre las descargas epilépticas, encontrado en el presente estudio, apoya sólidamente lo propuesto por estos autores. Por un lado, los grupos neuronales responsables de los potenciales PGO se encuentran distribuidos en varias regiones del tallo cerebral, que a su vez son parte de la formación reticular del tallo cerebral (Sakai et al., 2001). La generación de los potenciales PGO implica la activación a frecuencias elevadas de estos grupos neuronales, lo que a su vez indica una activación de la formación reticular durante el sueño MOR, en el que no se instalan las crisis convulsivas generalizadas. Por otro lado, varios trabajos experimentales demuestran que los potenciales PGO son los responsables de los movimientos oculares rápidos del sueño MOR (Callaway et al., 1987; Cespuglio et al., 1975; Cespuglio et al., 1976; Jeannerod 1965; Mouret et al., 1963) y también existen evidencias de que estos potenciales participan en la generación de la atonía muscular al inicio del sueño MOR (Chase y Morales 1982; Chase y Morales 1990; Morales et al., 1987). Por lo tanto, los signos poligráficos del sueño MOR señalados durante la extinción de las crisis, coinciden con los componentes de los mecanismos de instalación del sueño MOR y que en el presente estudio se muestra que tienen un efecto inhibitorio sobre la actividad epiléptica.

Todos los resultados y datos hasta aquí mencionados, constituyen la fenomenología que hace evidente el efecto inhibitorio que tienen el sueño MOR y los potenciales PGO, sobre la actividad convulsiva. Sin embargo, los mecanismos a través de los cuales

se lleva a cabo dicho efecto, han sido poco investigados.

En trabajos previos de nuestro laboratorio se han obtenido resultados que pueden explicar parcialmente la influencia inhibitoria que ejercen los potenciales PGO sobre la actividad convulsiva, particularmente la generada en la amígdala del lóbulo temporal. Hemos encontrado que los potenciales PGO del sueño MOR, son propagados desde su origen pontino hacia diferentes estructuras del sistema límbico, incluyendo a la amígdala del lóbulo temporal (Calvo y Fernández-Guardiola 1984). En estudios anatómicos sobre la amígdala, varios autores han demostrado que esta estructura tiene abundantes conexiones recíprocas con los núcleos pontinos generadores de los potenciales PGO, particularmente con la región PBL, a través de haz amigdalofugal ventral (Halsell, 1992; Price et al., 1987; Amaral et al., 1992). Esta vía anatómica es por donde se propagan los potenciales PGO hacia la amígdala.

En otra serie experimental llevada a cabo en nuestro laboratorio, donde analizamos la actividad neuronal amigdalina a través de las diferentes fases del sueño y la vigilia, encontramos que el 65 % de las neuronas registradas, muestran que su frecuencia de descarga es significativamente mayor durante el sueño MOR, que en los demás estados del sueño y que estas neuronas alcanzan sus frecuencias máximas durante la ocurrencia de los potenciales PGO (Calvo y Simón-Arceo 1999). Estos resultados muestran que las neuronas amigdalinas son desincronizadas intermitentemente por los potenciales PGO durante el sueño MOR. Probablemente esta desincronización intermitente impide la sincronización neuronal que está implícita en las espigas y descargas epilépticas, dando como resultado la disminución del número de espigas y el retraso en la propagación de éstas hacia otras regiones cerebrales. Asimismo, probablemente los potenciales PGO independientes del sueño MOR también provocan dicha desincronización neuronal amigdalina y consecuentemente el retraso de la epileptogénesis observado en el presente estudio.

En otros estudios neurofisiológicos donde se ha analizado la actividad neuronal de diversas regiones de la corteza cerebral y de estructuras subcorticales, se ha encontrado que el 75% de las neuronas registradas, muestran aceleraciones de su

frecuencia de descarga o bien, la inhibición de su actividad y que estos cambios están relacionados directamente con la ocurrencia de los potenciales PGO (Hobson 1964; Callaway et al., 1987). Este fenómeno probablemente es responsable de evitar la propagación de la actividad epiléptica hacia otras regiones cerebrales y también inhibir las expresiones motoras de las crisis, las cuales involucran la participación de diversas regiones corticales y subcorticales.

El análisis de los cambios de la organización del sueño en cada situación experimental del presente estudio, mostró resultados que complementan a estudios previos y que agregan datos al conocimiento de la relación del sueño con la epilepsia.

El presente estudio también corrobora que la inducción de potenciales PGO independientes, por la aplicación de carbacol en la región PBL, siempre está seguida del incremento significativo y duradero del sueño MOR (Calvo et al., 1992). Sin embargo, en este trabajo previo se describe que el día de la aplicación del carbacol, el porcentaje del sueño MOR no presenta cambios significativos en relación al control y que es hasta 24 horas después, que esta fase del sueño muestra un incremento significativo de su porcentaje, a más del doble del porcentaje control. También se describe que el día de la aplicación de carbacol, el porcentaje de los episodios de SFOL se disminuye significativamente, en comparación con los valores control. En cambio, los resultados del presente estudio muestran que el porcentaje del sueño MOR tiene un aumento significativo a más del doble del control, desde el día de la aplicación del carbacol. También muestran que el porcentaje de los episodios de SFOL es mayor que su porcentaje en situaciones de control, desde el día de la aplicación del carbacol.

Estas diferencias pueden explicarse por la duración de los registros poligráficos llevados a cabo en cada estudio. En el trabajo previo los registros poligráficos solo duraron 4 horas a partir de la aplicación del carbacol, tiempo en el cual los episodios de SFOL no han ocurrido y los episodios de sueño MOR apenas comienzan a presentarse por el alargamiento de su latencia provocado por el carbacol. En el presente estudio los registros poligráficos del sueño fueron de 23 horas y se

encontraron los mismos cambios en las primeras 4 horas, pero además se pudo determinar con precisión los cambios del sueño en las siguientes horas del mismo día.

Los resultados también mostraron que cuando solamente se provocó la actividad epiléptica amigdalina, el porcentaje de la vigilia aumentó significativamente, debido a la presentación continua de espigas, descargas focales y de crisis convulsivas generalizadas. Concomitantemente, el porcentaje del sueño MOR fue disminuido significativamente y la acumulación por hora del tiempo pasado en esta fase del sueño, fue disminuida significativamente en comparación con todas las demás situaciones experimentales, desde la segunda hora del registro poligráfico. Estos cambios del sueño provocados por la ocurrencia sostenida o reiterativa de las descargas y crisis epilépticas generalizadas, coinciden con los cambios del sueño descritos, tanto en estudios clínicos (Montplaisir et al., 1985 ; Terzano et al., 1992 ; Besset 1982; Passouant 1982), como en estudios experimentales (Calvo y Fernández-Mas 1994; Shouse y Serman 1983).

Cuando la inducción de la epileptogénesis amigdalina fue precedida o seguida de la inducción de los potenciales PGO, no hubo efectos deletéreos sobre el sueño MOR, ni sobre los episodios de SFOL. Sorprendentemente, el porcentaje de los episodios SFOL que no mostró cambios significativos con la aplicación única de carbacol, cuando ésta fue precedida o seguida por la inducción de la actividad epiléptica, el porcentaje de estos episodios aumentó significativamente al doble de sus valores control e incluso al doble de sus valores con la aplicación única de penicilina. También de manera sorprendente, el porcentaje del sueño MOR que mostró la disminución significativa cuando solo se indujo la epilepsia amigdalina, mostró valores mayores que su porcentaje control, cuando la inducción de la epilepsia fue precedida de la inducción de potenciales PGO y cuando la epilepsia fue inducida antes que los potenciales PGO, el porcentaje del sueño MOR alcanzó valores significativamente mayores a su porcentaje control. A su vez, en ambas situaciones donde se combinó la aplicación de carbacol con la de penicilina, el porcentaje del sueño MOR fue mas del doble de su porcentaje cuando solamente se indujo la epilepsia, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

Estos resultados muestran que los cambios en los porcentajes de los episodios SFOL y del sueño MOR, son opuestos cuando se inducen por separado los potenciales PGO y la actividad epiléptica amigdalina. Pero cuando se combina la inducción de los potenciales PGO con la inducción de la epilepsia amigdalina, en lugar de anularse los efectos, éstos se suman dando como resultado el aumento del porcentaje de ambos estados del sueño, por encima de los valores control.

En estudios previos llevados a cabo en nuestro laboratorio, hemos encontrado que la estimulación eléctrica a intensidades bajas de la amígdala del lóbulo temporal, durante los episodios de sueño MOR, provoca el aumento significativo de la densidad de los potenciales PGO (Calvo et al., 1987). Esto muestra que la amígdala ejerce una influencia facilitatoria sobre los mecanismos generadores de los potenciales PGO, los que a su vez constituyen un componente central de los mecanismos de instalación y mantenimiento del sueño MOR. También hemos mostrado que la estimulación colinérgica de la amígdala, mediante la aplicación tópica de carbacol, provoca el aumento significativo y a largo plazo (6 días) de la densidad de los potenciales PGO, particularmente de las salvas de estos potenciales y el aumento también significativo y a largo plazo tanto del porcentaje de los episodios de SFOL, como el porcentaje del sueño MOR (Calvo et al., 1996; Calvo y Simón-Arceo 1999). Asimismo, hemos encontrado efectos semejantes sobre los potenciales PGO, los episodios de SFOL y el sueño MOR, con la aplicación tópica del péptido intestinal vasoactivo (VIP) en la amígdala (Simón-Arceo et al., 2003). El VIP es un péptido que promueve la instalación del sueño MOR (El Kafi et al., 1994; Riou et al., 1982).

Todos estos resultados hacen evidente que la amígdala del lóbulo temporal es una estructura que participa en la regulación de la instalación del sueño MOR, particularmente a través de facilitar la ocurrencia de los potenciales PGO y de los episodios de SFOL que siempre preceden al sueño MOR. Estas características fisiológicas de la amígdala y el hecho de que la aplicación tópica de penicilina implica el aumento de la excitabilidad neuronal de la amígdala, pueden explicar en parte el aumento de la densidad de potenciales PGO, de los episodios de SFOL y consecuente-

mente el del sueño MOR, observados en el presente estudio al inducir conjuntamente la epilepsia amigdalina y los potenciales PGO. Es decir, que el estado de excitabilidad aumentada de la amígdala, provocado por la inducción de la actividad epiléptica, puede tener en cierta medida un efecto semejante al de su estimulación eléctrica o colinérgica mediante el carbacol, lo que a su vez provoca el aumento de los potenciales PGO, del sueño MOR y de los episodios de SFOL que preceden su instalación. Si además de provocar este estado de excitación amigdalina, se induce la ocurrencia sostenida de potenciales PGO es probable que en esta situación experimental, tengan lugar los siguientes fenómenos. La ocurrencia sostenida de potenciales PGO puede estar protegiendo a la amígdala de las descargas epilépticas y por lo tanto, la amígdala puede estar en condiciones fisiológicas que le permiten ejercer su influencia facilitatoria sobre los potenciales PGO y consecuentemente sobre la instalación del sueño MOR. El efecto inhibitorio de los potenciales PGO sobre la epileptogénesis amigdalina, hecho evidente en este mismo estudio, apoya esta idea. Asimismo, el hecho de que la sola inducción de la actividad epiléptica provoque la disminución del sueño MOR, de los episodios de SFOL y de los potenciales PGO, también apoya la idea de que la amígdala este siendo protegida de la epilepsia por los potenciales PGO y así pueda facilitar la ocurrencia de estos potenciales y de los estados del sueño asociados a éstos, los episodios de SFOL y el sueño MOR.

En resumen, los resultados del presente estudio aportan datos que apoyan la hipótesis del efecto inhibitorio de los potenciales PGO, sobre la epileptogénesis y la instalación de las crisis convulsivas generalizadas. Es importante destacar que el diseño experimental de esta investigación hizo posible analizar las probables funciones que tienen por si mismos los potenciales PGO y con ello, mostrar por primera vez , en que magnitud ejercen una función inhibitoria sobre la epilepsia.

También es importante señalar que se han propuesto varias funciones del sueño MOR como un estado global. En estas funciones propuestas, solamente se han propuesto dos en las que se considera que los potenciales PGO tienen una participa-

ción importante. Una es la de proteger el curso del sueño MOR, mediante el bloqueo de las vías sensoriales primarias, a nivel de sus primeros núcleos de relevo y así aumentar el umbral al despertar ante los estímulos sensoriales del entorno (Kavanau 1994). La otra función, es la de preservar o reprogramar las funciones genéticamente predeterminadas, como las funciones instintivas. Para el cumplimiento de esta función del sueño MOR, se hace énfasis en que la activación fásica de diversas estructuras cerebrales a cargo de los potenciales PGO, es indispensable para la reprogramación del genoma de las neuronas, para que éstas, que son células que no se reproducen, preserven sus funciones a través de toda la vida (Jouvet 1965). El presente estudio aporta datos que apoyan una función protectora de los potenciales PGO ante los cambios bruscos de la excitabilidad neuronal, como las descargas epilépticas. Probablemente estas características de los potenciales PGO, además de proteger el curso del sueño MOR ante estímulos del entorno, también lo protege de cambios exagerados de la excitabilidad neuronal, propiciando así que las funciones de reprogramación o restauración cerebral se lleven a cabo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral DG, Price JL, Pitkänen A y Carmichael ST. (1992). Anatomical Organization of the Primate Amygdaloid Complex. En: *The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction*. Aggleton, J.P (Eds.). New York Willey-Liss pp. 1-66.
- Arnulf I, Sastre JP, Buda C y Jouvet M. (1998). Hyperoxia increases paradoxical sleep rhythm in the pontine cat. *Brain Res.*, 807: 160-166.
- Aserinsky E y Kleitman N. (1953). Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science*, 118: 273-274.
- Ayala GF. (1976). Actividad ponto-geniculo-occipital (PGO) durante el sueño del gato. *Ser. Biol. Exp.*, 1: 5-20.
- Ayala GF. (1983). Filogenia del sueño: Los mamíferos. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx. (Suplemento)*, 32: 67-82.
- Baldy-Moulinier M. (1982). Temporal lobe epilepsy and sleep organization. In M. B. Sterman, M.N., Shouse, and P. Passouant (eds.). *Sleep and Epilepsy*, Academic Press, New York. pp. 347-359.
- Baldy-Moulinier M, Touchon J, Besset A, Billiard M, Cadilhac J y Passouant P. (1984). Sleep architecture and epileptic seizures. In R. Degen and E. Niedemeyer (eds.), *Epilepsy, sleep and sleep deprivation*. Elsevier, Amsterdam. pp. 109-118.
- Balzamo E. (1980). Un primate parmi les primates. Etats de vigilance et activites ponto-geniculo-corticales (PGC). *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 48: 694-705.
- Baust W, Holzbach E y Zechlin O. (1972). Phasic changes in heart rate and respiration correlated with PGO-spike activity during REM sleep. *Pflugers Arch.*, 331: 113-123.
- Berger H. (1929) Uber das elektroencephalogram des menchen. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 87: 527-570.
- Berger H. (1930) Uber das elektroencephalogram des menchen Zweite Mitteilung. *J. Psych. Neurol.*, 40: 160-179.
- Bergonzi P, Chiurulla C, Cianchetti C y Quattrini A. (1972). Effetti della "REM - deprivation" negli epilettici (attivata patologica EEG, fasi e cicli del sonno). *Riv. Pat. Nerv. Ment.*, 93: 49-59.

Bergonzi P, Mazza S, Mennuni G y Zolo P. (1975). Selective sleep deprivation (stage IV) in epileptic patients with partial seizures. *Archiv. Psicol. Neurol. Psichiatr.*, 36 : 313-318.

Besset A. (1982). Influence of generalized seizures on sleep organization. In M.B. Serman, M.N., Shouse, and P. Passouant (eds.). *Sleep and Epilepsy*, Academic Press, New York. pp. 339-346.

Berlucchi G, Moruzzi G, Salvo G y Strata P. (1964). Pupil behavior and ocular movement during synchronized and desynchronized sleep. *Arch. Ital. Biol.*, 102: 230-245.

Bertrand F y Hugelin A. (1971). Respiratory synchronizing function of nucleus parabrachialis medialis: pneumotaxic mechanisms. *J. Neurophysiol.*, 34: 189-207.

Bizzi E y Brooks DC. (1963). Functional connections between pontine reticular formation and lateral geniculate nucleus during sleep. *Arch. Ital. Biol.*, 101: 666-680.

Bremer F. (1935). Cerveau "isolé" et physiologie du sommeil. *C.R.Soc.Biol.(Paris)*, 118: 1235-1241.

Brooks DC y Bizzi E. (1963). Brain stem electrical activity during deep sleep. *Arch. Ital. Biol.*, 101: 648-665.

Brooks DC. (1968). Waves associated with eye movement in the awake and sleep cat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 24: 532-541.

Brooks DC y Gershon MD. (1971). Eye movement potentials in the oculomotor and visual system: A comparison in reserpine induce waves with those present during wakefulness and rapid eye movement sleep. *Brain Res.*, 27: 223-239.

Brooks DC y Gershon MD. (1972). An analysis of the effect of reserpine upon pontogeniculo- occipital wave activity in the cat. *Neuropharmacology*, 11: 499-510.

Buguet A, Petitjean F y Jouvet M. (1970). Suppression des pointes ponto-geniculo-occipitales du sommeil par lésion ou injection in situ de 6-hydroxy-dopamine au niveau du tegmentum pontique. *C.R.Soc.Biol.(Paris)*, 164: 2293-2298.

Caballero A, de Andres I. (1986). Unilateral lesion in locus coeruleus area enhance paradoxical sleep. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 64: 339-346.

- Cadilhac J, Vlahovitch B y Delange-Walter M. (1965). Considerations sur les modifications des descharges epileptiques au cours de la periode des mouvements oculaires. In H. Fishgold (ed.), *Sommeil de nuit normal et pathologique*, Masson, Paris, 275-282.
- Callaway CW, Lydic R, Baghdoyan HA y Hobson JA. (1987). Pontogeniculooccipital waves: spontaneous visual system activity during rapid eye movement sleep. *Cellular and Molecular Neurobiology.*, 7: 105-149.
- Calvo JM, Alvarado R, Briones R, Paz C, y Fernandez-Guardiola A. (1982). Amygdaloid kindling during rapid eye movement (REM) sleep in cats. *Neurosci. Lett.* 29: 255-259.
- Calvo JM and Fernandez-Guardiola A. (1984). Phasic activity of basolateral amygdala, cingulate gyrus, and hippocampus during REM sleep in the cat. *Sleep*, 7: 202.
- Calvo JM, Badillo S, Morales-Ramirez M y Palacios-Salas P. (1987). The role of the temporal lobe amygdala in ponto-geniculo-occipital activity and sleep organization in cats. *Brain Res.*, 403: 22-30.
- Calvo JM., (1991). Amygdaloid kindling during wakefulness and paradoxical sleep in the cat. 1. Inhibitory influence of paradoxical sleep on kindling development. *Epilepsy Res.*, 9: 113-120.
- Calvo JM, Datta S, Quattrochi J y Hobson JA. (1992). Cholinergic microstimulation of the peribraquial nucleus in the cat. II. Delayed and prolonged increases in REM sleep. *Archives Italiennes de Biologie.* 130: 285-301.
- Calvo JM, Fernandez-Mas R. (1994). Transitory and short-duration changes of sleep organization provoked by amygdaloid kindling in the cat: A daily 23-hour sleep recording study. *Epilepsy Research* 19:1-13.
- Calvo JM, Simón-Arceo K, Fernández-Mas R. (1996). Prolonged enhancement of REM sleep produced by carbachol microinjection into the amygdala. *Neuroreport*, 7: 577-580.
- Calvo JM y Simón-Arceo K. (1999). Long-term enhancement of REM sleep from sites in the pons and amygdala. In *Handbook of Behavioral States Control: Cellular and Molecular Mechanisms*. Lydic, R and Baghdoyan, H. (Eds.) CRC Press, Inc. Florida, USA. 391-406.
- Cepeda C, Pacheco MT, Hernández S y Almanza X. (1986). Kainic acid-induced limbic seizures in cats: some reflections on sleep-epilepsy interactions. *Epilepsia.* 27: 375-384.

- Cespuglio R, Laurent JP y Jouvet M. (1975). Etude des relations entre l'activite pontp-geniculo-occipitale (PGO) et la motricité oculaire chez le chat sous réserpine. *Brain Res.*, 83: 319-335.
- Cespuglio R, Laurent JP y Calvo, JM. (1976). Organisation anatomique des activités phasiques provoquées par la reserpine au niveau du système oculo-moteur. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 40: 12-24.
- Cespuglio R, Calvo JM, Musolino R y Valatx JL. (1977). Activite phasique chez le rat. *Physiol. Behav.*, 19: 589-596.
- Cespuglio R, Marinesco S, Baubet V, Bonnet C, El Kafi B. (1995). Evidence for a sleep-promoting influence of stress. *Adv. Neuroimmunol.*, 5: 145-154.
- Chase MH y Morales FR. (1982). Phasic changes in motoneuron membrane potential during REM periods of active sleep. *Neurosci. Lett.*, 34: 177-182.
- Chase MH y Morales FR. (1990). The atonia and myoclonia of active (REM) sleep. *Annu.Rev.Psychol.*, 41: 557-584.
- Cohen H y Dement WC. (1965). Sleep: changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of "paradoxical" phase. *Science*, 150: 1318-1319.
- Cohen H y Dement WC. (1966). Sleep: supression of rapid eye movement phase in the cat after electroconvulsive shock. *Science*, 154: 396-398.
- Cohen H, Thomas J y Dement WC. (1970). Sleep stages, REM deprivation and electroconvulsive threshold in the cat. *Brain Res.*, 19: 317-321.
- Datta S, Paré D, Oakson G y Steriade M. (1989). Thalamic-projecting neurons in brainstem cholinergic nuclei increases their firing rates one minute in advance of EEG desynchronization associated with REM sleep (abstract), *Soc. Neurosci. Abstr.*, 15: 452.
- Datta S, Calvo JM, Quattrochi J y Hobson JA. (1991). Long-term enhancement of REM sleep following cholinergic stimulation. *Neuroreport.*, 2: 619-622.
- Datta S, Calvo JM, Quattrochi J y Hobson JA. (1992). Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the cat. 1. Inmediated and prolonged increase in ponto-geniculo-occipital waves. *Arch. Ital. Biol.*, 130: 263-284.
- Datta S, Quattrochi J y Hobson JA. (1993). Effect of Specific Muscarinic M2-Receptor Antagonist on Carbachol Induced Long-Term REM Sleep. *Sleep*, 16: 8-14.

Datta S. (1994). Role of caudolateral peribrachial cells in the expression of spontaneous PGO waves. A neurotoxic lesion study. *Sleep*.

Datta S y Hobson JA. (1994). Neuronal Activity in the Caudolateral Peribrachial Pons - Relationship to Pgo Waves and Rapid Eye Movements. *Journal of Neurophysiology*, 71: 95-109.

Datta S. (1995). Neuronal activity in the peribrachial area: Relationship to behavioral state control. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 19: 67-84.

Datta S y Hobson JA. (1995). Suppression of ponto-geniculo-occipital waves by neurotoxic lesions of pontine caudo-lateral peribrachial cells. *Neuroscience*, 67: 703-712.

Davenne D y Adrien J. (1984). Suppression of PGO waves in the kitten: Anatomical effects on the lateral geniculate nucleus. *Neurosci. Lett.*, 45: 33-38.

Davenne D y Adrien J. (1987). Lesion of the ponto-geniculo-occipital pathways in kittens. I. Effects on sleep and on unitary discharge of the lateral geniculate nucleus. *Brain Res.*, 409: 1-9.

Davenne D, Fregnac Y, Imbert M y Adrien J. (1989). Lesion of the PGO pathways in the kitten. II. Impairment of physiological and morphological maturation of the lateral geniculate nucleus. *Brain Res.*, 485: 267-277.

Delorme F, Vimont P y Jouvet D. (1964). Etude statistique du cycle veillesommeil chez le chat. *C. R. Soc. Biol.*, 158: 2128-2131.

Delorme JF, Jeannerod M y Jouvet M. (1965). Effets remarquables de la reserpine sur l'activite EEG phasique ponto-geniculo-occipitale. *C.R.Soc.Biol.(Paris)*, 159: 900-903.

Delorme JF, Froment JL y Jouvet M. (1966). Suppression du sommeil par la p-chloromethamphetamine et p- chlorophenylalanine. *C.R.Soc.Biol.(Paris)*, 160: 2347-2351.

Dement WC y Kleitman N. (1957). The relation of eye movement during sleep to dream activity. *J. Exp. Psychol.*, 53: 339-346.

Dement WC. (1958). The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioral sleep in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 10: 291-296.

Dempsey EW y Morison RS. (1942). The production of the rhythmically recurrent cortical potentials after localized thalamic stimulation. *Amer. J. Physiol.*, 135: 293-300.

- Denoyer M, Sallanon M, Buda C, Delhomme G, Dittmar A, y Jouvet M. (1991). The posterior hypothalamus is responsible for the increase of brain temperature during paradoxical sleep. *Exp. Brain Res.*, 84: 326-334.
- Drucker-Colin R, Bernal-Pedraza J, Fernandez-Cancino F y Morrison AR. (1983). 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.
- Dunin-Barkowski WL y Orem, JM. (1998). Suppression of Diaphragmatic Activity During Spontaneous Ponto-geniculo-occipital Waves in Cat. *Sleep*, 21: 671-675.
- Dusan-Peyrethon D. (1967). Etude quantitative des phénomènes phasiques du sommeil paradoxal pendant et après sa déprivation instrumentale. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 161:2530-2533.
- Echeverria MC. (1879). De l'épilepsie nocturne. *J. Ann. Med. Psychol.*, 6: 177-197.
- Eggermann E, Serafin M, Bayer L, Machard D, Saint-Mleux B, Jones BE, y Muhlethaler M. (2001). Orexins/hypocretins excite basal forebrain cholinergic neurones. *Neuroscience*, 108: 177-181.
- El Kafi B, Cespuglio R, Léger L, Marinesco S y Jouvet, M. (1994). Is the Nucleus Raphe Dorsalis a Target for the Peptides Possessing Hypnogenic Properties. *Brain Res.*, 637: 211-221.
- Féré L. (1890). Les epilepsies et les épileptiques. Alcan, Paris.
- Fernandez-Guardiola A, Alcaraz VM, and Guzmán-Flores C. (1961). Inhibition of Convulsive Activity by the Reticular Formation. *Acta Neurol. Latinoamer.*, 7:30-36.
- Fernandez-Guardiola A, Okujava V, Guma E. (1968). Peripheral and central phenomena of post-epileptic extinction. *Epilepsia*, 9:303-310.
- Fernandez-Guardiola A, Ayala F. (1971). Red nucleus fast activity and signs of paradoxical sleep appearing during the extinction of experimental seizures. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 30:547-555.
- Fernandez-Guardiola A, Martinez A., Gutierrez Rafael y Fernandez-Mas R. (1991). Amygdaline penicillin focus replicates and modulates electrical amygdaloid Kindling in the cat. *Proc. West. Pharmacol.*, 34: 219-222.

- Fernandez-Guardiola A, Martínez A, Fernandez-Mas R. (1995). Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23-h recording), and brain mapping study. *Epilepsy Research* 22:127-136.
- Fulwiler CE y Saper CB. (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res.*, 319: 229-259.
- Gade-Ciria M. (1972). Etude sequentielle des pointes ponto-geniculo-occipitales (PGO) au cours du sommeil paradoxal chez le chat normal et apres lesions corticales et sous-corticales. These de Doctorat de Specialite. Lyon, France, Universite de Provence., pp. 219.
- Gadea-Ciria M. (1976). Cerebellar control of the feline oculomotor system during paradoxal sleep. *Exp. Neurol.*, 51: 263-265.
- Gadea-Ciria, M y Fuentes J. (1976). Analysis of phasic activities in the lateral rectus muscle of the eyes (PALRE) during paradoxical sleep in chronic cerebellectomized cats. *Brain Res.*, 111: 416-421.
- Gallopin T, Fort P, Eggermann E, Cauli B, Luppi PH, Rossier J, Audinat E, Muhlethaler M y Serafin M. (2000). Identification of sleep-promoting neurons in vitro. *Nature*. 404: 992-995.
- Gastaut H, Batini C, Fressy J, Broughton R, Tassinari CA y Vittini F. (1965). Etude electroencephalographique des phenomenes episodiques epileptiques au cours du sommeil. In H. Fischgold (ed.), *Sommeil de nuit normal et pathologique*. Masson, Paris. pp. 239-254.
- Gloor P, Quesney LF y Zumstein H. (1977). Pathophysiology of generalized epilepsy in the cat: The role of cortical and subcortical structures. II. Topical application of penicillin to the cerebral cortex and to subcortical structures. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 43: 79-94.
- Goddard GV, McIntyre DC y Leech CK. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.*, 25: 295-330.
- Gowers WR. (1901). *Epilepsy and other chronic convulsive diseases. Their causes, symptoms and treatment*. Churchill, London..
- Gritti I, Mariotti M y Mancina M. (1998). GABAergic and cholinergic basal forebrain and preoptic-anterior hypothalamic projections to the mediodorsal nucleus of the thalamus in the cat. *Neuroscience*, 85: 149-178.

- Guzmán-Flores C, Alcaráz M and Fernandez-Guardiola A. (1958). Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol. Est. Méd. Biol. (Méx)*. 16:29-31.
- Halsell CB. (1992). Organization of Parabrachial Nucleus Efferents to the Thalamus and Amygdala in the Golden Hamster. *J. Comp. Neurol.*, 317: 57-78.
- Hasseberg L. (1965). Ruhe and schlaf bei säugetieren. Wittenberg-Lutherstand: A Ziemsen. pp. 160.
- Henriksen SJ, Jacobs BL y Dement, W.C.. (1972). Dependence of REM sleep PGO waves on cholinergic mechanisms. *Brain Res.*, 48: 412-416.
- Hernández-Peón R. (1965). A cholinergic hypnogenic limbic forebrain-hindbrain circuit. En: Jouvet (Ed.), *Aspects anatom. of onctionnels. du sommeil*. Paris, Centre Reserche Scientifique, pp. 63-68.
- Hess WR. (1944). Das schlafsyndrom als folge dienzephaler reizung. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta.*, 2: 305-344.
- Hobson JA. (1964). L'activité électrique phasique du cortex et du thalamus au cours du sommeil désynchronise chez le chat. *Soc. Biol. (Lyon)*., 2134-2135.
- Hobson JA, McCarley RW, Wysinsky PW y Pivik RT. (1973). Reciprocal tonic firing by FTG and LC neurons during the sleep-waking cycle. *Sleep Res.*, 2: 29-34.
- Hobson JA, McCarley RW, Pivik RT y Freeman R. (1974). Selective firing by cat pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. *Journal of Neurophysiology.*, 37: 497-511.
- Hobson JA, McCarley RW y Wysinsky PW. (1975). Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brain stem neuronal groups. *Science*. 189: 55-58.
- Hobson JA. (1990). Sleep and dreaming. *J. Neurosci.*, 10: 371-382.
- Hobson JA y Pace-Schott E. (2002). The cognitive neuroscience of sleep: neuronal systems, consciousness and learning. *Nat. Rev. Neurosci.*, 3: 679-693.
- Horner RL, Sanford LD, Annis D, Pack AI y Morrison AR. (1997). Serotonin at the laterodorsal tegmental nucleus suppresses rapid- eye-movement sleep in freely behaving rats. *J. Neurosci.*, 17: 7541-7552.
- Janz D. (1962). The grand-mal epilepsies and the sleep-waking cycle. *Epilepsia.*, 3: 69-109.

- Jeannerod M, Mouret J. (1963). Etude comparative des mouvements oculaires observés chez le chat au cours de la veille et du sommeil. *J. Physiol. (Paris)*, 55:268.
- Jeannerod M. (1965) Organization de l'activité électrique phasique de sommeil paradoxal. Lyon, France: These de Medicine.
- Jones BE. (1991). Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neuroscience.*, 40: 637.
- Jouvet M y Michel F. (1959a). Corrélations électromyographiques du sommeil chez le chat décortiqué et mésencéphalique chronique. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 153: 422-425.
- Jouvet M, Michel F y Courjon J. (1959b). Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. *Comptes Rendus des Seances de la Societé de Biologie (Paris)*, 153: 1024-1028.
- Jouvet M. (1962). Reserches sur les structures nerveuses et les mecánismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. *Arch. Ital. Biol.*, 100: 125-206.
- Jouvet M y Jouvet D. (1963). A study of the neurophysiological mechanisms of dreaming. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, Suppl. 24, 133-157.
- Jouvet M. (1965a). Paradoxical sleep - A study of its nature and mechanisms. In K. Akert, C. Bally, & Shade (Eds.), *Progress in Brain Research. Vol. 18 Sleep Mechanisms*. pp. 20-62 Amsterdam: Elsevier.
- Jouvet M y Delorme JF (1965b). Locus coeruleus et sommeil paradoxal. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 159: 895-899.
- Jouvet M, Vimont-Vicary P y Delorme JF. (1965c). Suppression élective du sommeil paradoxal chez le chat par les inhibiteurs de la mono-amino-oxydase. *C. R. Soc. Biol.*, 159: 1595-1599.
- Jouvet M. (1967a). Neurophysiology of the states of sleep. *Physiol. Rev.*, 47: 117-177.
- Jouvet M. (1967b). Mechanisms of the states of sleep: A neuropharmacological approach. *Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis.*, 45: 86-126.
- Jouvet M. (1972) The role of monoamines and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. En: M. Jouvet y G. Moruzzi (Eds.). *Neuropysiology and Neurochemistry of Sleep and Wakefulness*. Reviews of Physiology, New York, Heidelberg, pp. 166, 307.

- Jouvet M. (1984). Mecanismos des etats de sommeil. *Physiologie du Sommeil*, Benoit, O. (Eds.) New York, Mexico Masson., pp. 1-18.
- Jouvet M. (1988). Paradoxical sleep as a programming system. *J. Sleep Res.*, 7 Suppl. 1: 1-5.
- Kavanau JL. (1994). Sleep and dynamic stabilization of neural circuitry: a review and synthesis. *Behav. Brain Res.*, 63: 111-126.
- Klaue R. (1937). Etude polygraphique des differents états du sommeil. *J. Psychol. Neurol.*, 47: 510-531.
- Kleitman N. (1963). Sleep and Wakefulness. The University of Chicago Press, Chicago and London.
- Koella WP. (1967). Sleep: Its nature and physiological organization. Charles C. Thomas, Florida.
- Kollar, EJ, Pasnau RO, Rubin RT, Naitoh T, Slatter GG y Kales A. (1969). Psychophysiological and biochemical correlates of prolonged sleep deprivation. *Am. J. Psychiat.*, 126 pp. 70-78.
- Kostopoulos G y Gloor P. (1982). A mechanisms for spike-wave discharge in feline penicilin epilepsy and its relationship to spindle generation. In M.B. Sterman, M.N. Shouse and P. Passoaunt (eds.). Sleep and Epilepsy. Academic Press, New York. pp. 11-27.
- Koyama Y y Sakai K. (2000). Modulation of presumed cholinergic mesopontine tegmental neurons by acetylcholine and monoamines applied iontophoretically in unanesthetized cats. *Neuroscience*, 96: 723-733.
- Langdon-Down M y Brian WR. (1929). Time of day in relation to convulsions in epilepsy. *Lancet*, 2: 1028-1032.
- Laurent JP, Cespuglio R y Jouvet M. (1974a). Delimitation des voies ascendentes de l'activite ponto-geniculo- occipitale chez le chat. *Brain Res.*, 65: 29-52.
- Laurent JP, Guerrero FA y Jouvet M. (1974b). Reversible suppression of the geniculate PGO waves and the concomitant increase of excitability of the intrageniculate optic nerve terminals. *Brain Res.*, 81: 558-563.

- Laurent JP, Rondouin G, Benita M y Jouvet, M. (1977). Reversible blockade of PGO waves and concomitant modifications of thalamic unit activity in chronic cats. *Brain Res.*, 137: 305-322.
- Libet B, Bleason CA, Wright EW, Freinsein B. (1977). Suppression of an epileptiform type of electrocortical activity in the rat by stimulation in the vicinity of locus coeruleus. *Epilepsia*, 18:451-462, 1977.
- Loomis A, Harvey EY y Hobart G. (1937). Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. *J. Exp. Psychol.*, 21: 127-144.
- López-Rodríguez F, Chase MH y Morales FR. (1992). PGO-Related Potentials in Lumbar Motoneurons During Active Sleep. *J. Neurophysiol.*, 68: 109-116.
- Luebke JI, Greene RW, Semba K, Kamondi A, McCarley RW y Reiner PB. (1992). Serotonin Hyperpolarizes Cholinergic Low-Threshold Burst Neurons in the Rat Laterodorsal Tegmental Nucleus In Vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 743-747.
- Matsumoto J y Jouvet M. (1964). Effets de reserpine, DOPA et 5 HTP sur les deux états de sommeil. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, 158: 2137-2140.
- McGinty D y Szymusiak R. (1998). Hypothalamic regulation of sleep and arousal. *Front. Biosci.*, 8: 1074-1083.
- Mikiten T, Niebyl P y Hendley C. (1961). EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharges from the thalamus of the cat. *Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol.*, 20: 327.
- Miyauchi S, Takino R, Fukuda H y Torii S. (1987). Electrophysiological evidence of dreaming: human cerebral potentials associated with rapid eye movements during REM sleep. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 66: 383-391.
- Molaie M y Cruz A. (1988). The effect of sleep deprivation on the rate of focal interictal epileptiform discharges. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 70: 288-292.
- Montplaisir J, Laverdiere M, Saint-Hilaire JM. (1982). Sleep and focal epilepsy: contribution of depth recording. En: MB Serman, MN Shouse, P Passouant (Eds). *Sleep and Epilepsy*. Academic Press, Nueva York 301-314.
- Montplaisir J, Lavardiere M y Saint-Hilaire JM. (1985). Sleep and epilepsy. En: Gotman, J.; Ives, J.R.; Gloor, P. (Eds). *Long-term Monitoring in Epilepsy*. Holand Elsevier Science Publisher (EEG Suppl No. 37) pp. 215-239.

- Morales, FR, Boxer P, Chase MH. (1987). Behavioral state-specific inhibitory postsynaptic potentials impinge on cat lumbar motoneurons during active sleep. *Exp. Neurol.*, 98: 418-435.
- Moruzzi G Y Magoun HW. (1949). Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 1: 455-473.
- Mouret JR, Jeannerod M y Jouvét M. (1963). L'activité électrique du système visuel au cours de la phase paradoxale du sommeil chez le chat. *J. Physiol. (Paris)*, 55: 305-306.
- Mouret JR, Willppula A, Frachon N y Jouvét M. (1968). Effets d'un inhibiteur de la monoamine-oxidase sur le sommeil du rat. *C.R.Soc.Biol.(Paris)*. 162: 914-917.
- Mraovitch S, Kumada M y Reis DJ. (1982). Role of the nucleus parabrachialis in cardiovascular regulation in cat. *Brain Res.*, 232: 57-75.
- Naquet R, Tanaka T y Cepeda C. (1984). Epileptic manifestation and influence on sleep in the baboon *Papio papio*. In R. Degen and E. Niedermeyer (eds.). *Epilepsy, sleep and sleep deprivation*, Elsevier, Amsterdam. pp. 47-57.
- Nelson JP, McCarley RW y Hobson, J.A. (1983). REM sleep burst neurons, PGO waves, and eye movement information. *J. Neurophysiol.*, 50: 784-797.
- Niedemeyer E. (1986). Petit mal, primary generalized epilepsy and sleep. In M.B. Serman, M.N. Shouse and Passoaunt (eds.). *Sleep and Epilepsy*. Academic Press, New York. pp. 191-207.
- Norgren R. (1976). Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *J.Comp.Neurol.*, 166: 17-30.
- Orem J. (1980). Control of the upper airways during the sleep and the hypersomnia-sleep apnea syndrome. *Physiology in Sleep*. Orem, J.; Barnes, C.D. (Eds.). New York, Academic Press., pp. 273-308.
- Orem J y Barnes CD. (1980). *Physiology in Sleep*. New York, Academic Press., pp. 1-347.
- Orem J. (1998). Augmenting expiratory neuronal activity in sleep and wakefulness and in relation to duration of expiration. *J. Appl. Physiol.*, 85: 1260-1266.
- Owen M y Bliss EL. (1970). Sleep loss and cerebral excitability. *Am. J. Physiol.*, 218: 171-173.

- Pappenheimer JR, Miller JB y Goodrich CA. (1967). Sleep promoting effect of cerebrospinal fluid from sleep deprived goats. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 58: 513-517.
- Passouant P. (1982). Historical views on sleep and epilepsy. In M.B. Sterman, MN., Shouse and P Passouant (eds.), *Sleep and Epilepsy*, Academic Press, New York, pp. 1-6.
- Passouant P. (1984). Historical aspects of sleep and epilepsy. In R Degen and E Niedermeyer (eds.), *Epilepsy, sleep and sleep deprivation*, Elsevier, Amsterdam. pp. 67-73.
- Patry FL. (1931). The relation of time of day, sleep and other factors to the incidence of epileptic seizures. *Am. J. Psychiatry*, 87: 789-813.
- Peigneux P, Laureys S, Fuchs S, Delbeuck X, Degueldre C, Aerts J, Delfiore G, Luxen A y Maquet P. (2001). Generation of rapid eye movements during paradoxical sleep in humans. *Neuroimage*, 14: 701-708.
- Perenin MT y Jeannerod M. (1971). Lésions internucléaires: effets sur la motricité oculaire pendant l'éveil et le sommeil paradoxal chez le chat. *Brain Res.*, 32: 299-310.
- Pieron H. (1913). En: Le probleme physiologique du sommeil. Paris, Masson, pp. 1-520.
- Pompeiano O y Morrison AR. (1966). Abolition of the rapid eye movements of desynchronized sleep following vestibular lesions. *Arch. Ital. Biol.*, 103: 569-595.
- Price JL, Russchen FT y Amaral DG. (1987). The limbic region. II: The amygdaloid complex. En: *Handbook of Chemical Neuroanatomy. Vol. 5, Integrated Systems of the CNS, Part I, Hypothalamus, Hippocampus, Amygdala, Retina*. Bjorklund, A.; Hokfelt, T.; Swanson, L.W. (Eds). Amsterdam, New York, Oxford. Elsevier, pp. 279-388.
- Quattrochi J, Mamelak AN, Macklis JD, Madison R y Hobson JA. (1989). Mapping neuronal inputs to REM sleep induction sites with carbachol fluorescent microspheres. *Science*, 245: 984-986.
- Quattrochi J, Mamelak A, Binder DK, Williams J, Rittenhouse C y Hobson JA. (1992). Dynamic Suppression of REM Sleep by Parenteral Administration of the Serotonin-1 Agonist Eltoprazine. *Sleep*, 15: 125-132.
- Quattrochi J, Mamelak AN, Binder D, Williams J y Hobson JA. (1993). Dose-Related Suppression of REM Sleep and PGO Waves by the Serotonin-1 Agonist Eltoprazine. *Neuropsychopharmacology*, 8: 7-13.

- Rechtschaffen A y Kales A. (1968). A manual of standardized terminology, technique and scoring system for sleep stages of human subjects. (1 st ed.) Washington, D. C., public health service, U. S. Government Printing Office.
- Rechtschaffen A, Bergmann B, Everson C, Kushida C y Gilliland M. (1989). Sleep deprivation in the rat: X. Integration and discussion of the findings. *Sleep*, 12: 68-87.
- Riou F, Cesuglio R, Jouvet M. (1982). Endogenous peptides and sleep in the rat: III the hypnogenic properties of vasoactive intestinal polypeptide. *Neuropeptides*, 2: 265-277.
- Rodin E, Luby ED y Gottlieb JS. (1962). The electroencephalogram during prolonged experimental sleep deprivation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 14: 544-551.
- Rodin E. (1984). Sleep deprivation and epileptological implications. In R. Degen and E. Niedermeyer (eds.). *Epilepsy, sleep and sleep deprivation*. Elsevier, Amsterdam. pp. 293-301.
- Roffwarg HP, Adrian J, Marks GA y Farber J. (1979). Central and peripheral REM sleep activity in the auditory system of the cat. *Sleep Research*, Chase, M.H.; Kripke, D.F.; Walter, P.J. (Eds). Los Angeles U.C.L.A. pp. 35
- Rondouin G, Baldy-Moulinier M y Passouant P. (1980). The influence of hippocampal kindling on sleep organization in cats. Effects of alpha-methylparatyrosine. *Brain Res.*, 181: 413-424.
- Rossi GF, Colicchio G, Pola P y Roselli R. (1984). Sleep and epileptic activity. In R. Degen and E. Niedermeyer (eds.), *Epilepsy, sleep and sleep deprivation*. Elsevier, Amsterdam. pp. 35-46.
- Ruch-Monachon MA, Jalfre M y Haefely W. (1976). Drugs and PGO waves in the lateral geniculate body of the curarized cat. I. PGO wave activity induced by Ro 4-1284 and by p- chlorophenylalanine (PCPA) as a basis for neuropharmacological studies. *Arch.Int.Pharmacodyn.Ther.*, 219: 251-268.
- Saito, H, Sakai K y Jouvet M. (1977). Discharge pattern of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. *Brain Res.*, 134: 59-72.
- Sakai K, Sastre JP, Salvert D, Touret M, Tohyama M, Jouvet M. (1977). Tegmentoreticular projections with special reference to the muscular atonia during paradoxical sleep in the cat: An HRP study. *Brain Res.*, 176: 233-254.

- Sakai K, Kanamori N y Jouvét M. (1979). Neuronal activity specific to paradoxical sleep in the bulbar reticular formation of unrestrained cats. *C.R.Acad.Sci.(Paris).*, 289: 557-561.
- Sakai K y Jouvét M. (1980). Brain stem PGO-ON cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Res.*, 194: 500-505.
- Sakai K. (1985). Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. In D. J. McGinty (Ed.), *Brain Mechanisms of Sleep*. (pp. 111-137). New York: Raven Press.
- Sakai K, Luppi PH, Salvert D, Kimura H, Maeda T y Jouvét M. (1986). Localisation des neurones cholinergiques dans le tronc cérébral inférieur chez le chat. *C. R. Acad. Sc. (Paris)*, 303: 317-324.
- Sakai K, El Mansari M y Jouvét M. (1990). Inhibition by carbachol microinjections of presumptive cholinergic PGO-on neurons in freely moving cats. *Brain Res.*, 527: 213-223.
- Sakai K, Crochet S y Onoe H. (2001). Pontine structures and mechanisms involved in the generation of paradoxical (REM) sleep. *Arch. Ital. Biol.* 139: 93-107.
- Sanford LD, Ball WA, Morrison AR, Ross RJ y Mann G. (1992). Peripheral and Central Components of Alerting - Habituation of Acoustic Startle, Orienting Responses, and Elicited Waveforms. *Behav. Neurosci.*, 106: 112-120.
- Saper CB y Loewy AD. (1980). Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res.*, 197: 291-317.
- Sastre JP y Jouvét M. (1979). Le comportement onirique du chat. *Physiol. Behav.*, 22: 974-978.
- Sato M y Nakashima T. (1975). Kindling secondary epileptogenesis sleep and catecholamines. *Can. J. Neurol. Sci.*, 5: 439-446.
- Shouse MN y Sterman MB. (1982). Acute sleep deprivation reduces amygdala-kindled seizure threshold in cats. *Exp. Neurol.*, 78: 716-727.
- Shouse MN y Sterman MB. (1983). 'Kindling' a sleep disorder: degree of sleep pathology predicts kindled seizure susceptibility in cats. *Brain Res.*, 271: 196-200.
- Shouse MN y Siegel JM. (1992). Pontine Regulation of REM Sleep Components in Cats - Integrity of the Pedunculopontine Tegmentum (PPT) Is Important for Phasic Events But Unnecessary for Atonia During REM Sleep. *Brain Res.*, 571: 50-63.

- Simon-Arceo K, Ramirez-Salado I y Calvo JM. (2003). Long-lasting enhancement of rapid eye movement sleep and pontogeniculooccipital waves by vasoactive intestinal peptide microinjection into the amygdala temporal lobe. *Sleep*, 26: 259-264.
- Simon RP, Michel DG y Brooks DC. (1973). The role of the raphe nuclei in the regulation of ponto-geniculo- occipital waves activity. *Brain Res.*, 313-330.
- Snider, RS and Niemer, WT. (1961). A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Steriade M, Sakai K y Jouvet M. (1984). Bulbothalamic neurons related to thalamocortical activation processes during paradoxical sleep. *Exp. Brain Res.*, 54: 463-475.
- Steriade M. (1987). The genesis of synchronized thalamocortical oscillations during sleep. Proceedings, 5th International Congress of Sleep Research., 442.
- Steriade M y McCarley RW. (1990a). Brainstem control of wakefulness and sleep. Plenum Press, New York.
- Steriade M, Paré D, Datta S, Oakson G, y Curró-Dossi R. (1990b). Different cellular types in mesopontine cholinergic nuclei related to ponto-geniculo-occipital waves. *J. Neurosci.*, 10: 2560.
- Steriade M. (1992). Basic Mechanisms of Sleep Generation. *Neurology*, 42: 9-18.
- Steriade M, Contreras D, Dossi RC y Nunez A. (1993a). The Slow (<1 Hz) Oscillation in Reticular Thalamic and Thalamocortical Neurons - Scenario of Sleep Rhythm Generation in Interacting Thalamic and Neocortical Networks. *J.Neurosci.*, 13: 3284-3299.
- Steriade M, Dossi RC, y Contreras D. (1993b). Electrophysiological Properties of Intralaminar Thalamocortical Cells Discharging Rhythmic (Approximate-to 40 Hz) Spike-Bursts at Approximate-to 1000 Hz During Waking and Rapid Eye Movement Sleep., *Neuroscience* 56: 1-9.
- Sterman MB, Knauss T, Lehman D y Clemente CD. (1965). Circadian sleep and waking patterns in the laboratory cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 19: 509-517.
- Tanaka T y Naquet R. (1975). Kindling effect and sleep organization in cats. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 39: 449-454.

- Tanaka T y Naquet R. (1976). Epilepsy and sleep organization in the baboon papio papio. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 41: 580-586.
- Taylor WB, Moldofsky H y Furedy JJ. (1985). Heart rate deceleration in REM sleep: an orientating reaction interpretation. *Psychophysiology*, 22: 110-115.
- Terzano MG, Parrino L, Anelli S, Boselli M y Clemens B. (1992). Effects of Generalized Interictal EEG Discharges on Sleep Stability Assessment by Means of Cyclic Alternating Pattern. *Epilepsia*, 33: 317-326.
- Thomas J, y Benoit O. (1967). Individualisation d'un sommeil a ondes lentes et activité phasique. *Brain Res.*, 5: 221-235.
- Ursin R y Serman MB. (1981). A manual for standardized scoring of sleep and waking in the adult cat. Brain Information Service / Brain Research Institute. Los Angeles.
- Valatx JL, Jouvet D y Jouvet M. (1964). Evolution electroencephalographique des différents états du sommeil chez le chaton. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 17: 218-233.
- Vertes RP (1979). Brain stem gigantocellular neurons: Patterns of activity during behavior and sleep in the freely moving rat. *J. Neurophysiol.*, 42: 214-228.
- Vinken PJ y Bruyn GW. (1974). Handbook of clinical neurology. *The epilepsies*. American Elsevier, New York.
- Vivaldi E, McCarley RW, Hobson JA. (1980). Evocation of desynchronized sleep signs by chemical microstimulation of the pontine brainstem. *The reticular Formation Revisited* (Book Chapter) Hobson, J.A.; Brazier, M.A.B. Eds. New York. Raven Press. pp 513-529.
- Von Economo C. (1930). Sleep as a problem of localization. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 7: 249-259.
- Wada JA y Sato M. (1974). Generalized convulsive seizures induced by daily electrical stimulation of the amygdala. Correlative electrographic and behavioral features. *Neurology.*, 24: 565-574.
- Ward DG, Grizzle WE y Gann DS (1976). Inhibitory and facilitatory areas of the rostral pons mediating ACTH release in the cat. *Endocrinology*, 99: 1220-1228.

Yamamoto K, Mamelak AN, Quattrochi J, Hobson JA. (1990a). A cholinergic desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: locus of sensitive region. *Neuroscience* 39: 279-293.

Yamamoto K, Mamelak AN, Quattrochi J, Hobson JA. (1990b). A cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: spontaneous and drug-induced neuronal activity. *Neuroscience* 39: 295-304.