

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR**

Doctorado en Ciencias Biomédicas

**“EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NERVIIO VAGO SOBRE LA  
ORGANIZACIÓN CIRCÁDICA DEL SUEÑO EN EL GATO Y SU CORRELATO  
FISIOLÓGICO”**

**T E S I S**

que para obtener el grado de Doctor en Ciencias presenta:

Licenciado en Psicología Alejandro Valdés Cruz

Tutor Académico: Dr. José María Calvo y Otálora

Asesor: Dr. Augusto Fernández Guardiola

Jurado asignado por el Comité Académico:

Dr. MIGUEL ÁNGEL MORALES MENDOZA (Presidente)

Dra. LIMEI ZHANG JI

Dra. MARIA LUISA FANJUL PEÑA

Dr. FIDEL RAMÓN ROMERO

Dra. LUISA LILIA ROCHA ARRIETA

Dra. ANABEL JIMÉNEZ ANGUIANO



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

# INDICE

ABREVIATURAS .....	1
RESUMEN .....	3
SUMMARY .....	6
INTRODUCCIÓN .....	9
ASPECTOS GENERALES DEL SUEÑO .....	11
EL CICLO SUEÑO VIGILIA EN EL GATO .....	14
ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE AFERENTES VAGALES .....	28
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	34
HIPÓTESIS .....	34
OBJETIVOS .....	35
MÉTODO .....	36

PROCEDIMIENTO ..... 40

RESULTADOS ..... 46

DISCUSIÓN ..... 59

CONSIDERACIÓN FINAL ..... 66

## APÉNDICE

MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL SUEÑO ..... 69

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL NERVIO VAGO ..... 81

## REFERENCIAS

## PUBLICACIÓN Y TRABAJO ENVIADO

**ABREVIATURAS**

AM	Núcleo basolateral de la amígdala del lóbulo temporal
AMc	Núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal
CGL	Cuerpo geniculado lateral del tálamo
CGT	Campo gigantocelular tegmental
CTM	Campo tegmental magnocelular
EEG	Electroencefalograma
ENTS	Estimulación eléctrica del núcleo del tracto solitario
ENV	Estimulación eléctrica del nervio vago
LB	Línea base
LC	Locus coeruleus
LC- $\alpha$	Locus coeruleus alfa
MOR (sueño)	Movimientos oculares rápidos (sueño)
NAMB	Núcleo ambiguo
NMDV	Núcleo motor dorsal del vago
NRD	Núcleo del rafe dorsal
NRPC	Núcleo reticularis pontis caudalis
NRPO	Núcleo reticularis pontis oralis
NRT	Núcleo reticular del tálamo
NTS	Núcleo del tracto solitario
PBL	Región parabraquial
PCPA	Paraclorofenilalanina

Peri LC- $\alpha$	Peri locus coeruleus alfa
PGO	Ponto-genículo-occipital
PPT	Tegmento pedúnculo pontino
RPE	Registros post-estímulo
SFOL	Sueño fásico de ondas lentas
SOL	Sueño de ondas lentas
SOL I	Sueño de ondas lentas I
SOL II	Sueño de ondas lentas II
TLD	Tegmento lateral dorsal
TP	Tegmento pontino
VIP	Péptido intestinal vasoactivo

## RESUMEN

Se ha considerado que el nervio vago no juega papel alguno en los mecanismos de los estadios del ciclo sueño- vigilia, a pesar de estar relacionado anatómica y funcionalmente con áreas del sistema nervioso, principalmente del tallo cerebral, que son esenciales para la aparición y mantenimiento de los estadios del sueño. Desde los trabajos pioneros de estimulación eléctrica del nervio vago (ENV) se observaron efectos sobre los estados de activación cerebral. Sin embargo, debido a que la mayoría de los trabajos han sido con preparaciones agudas en el gato, existe una controversia en definir si el efecto de la ENV es únicamente sobre la activación o desactivación transitoria de la actividad del electroencefalograma (EEG), o si también influye en el patrón de los estadios del sueño en el transcurso de horas e incluso días posteriores a la estimulación, es decir que el efecto sea persistente.

Por lo tanto, el propósito del presente proyecto fue investigar el efecto de la ENV, sobre la conducta, la organización de las fases del ciclo sueño-vigilia y la actividad del EEG en gatos con preparación crónica y aguda. Para lo cual se llevaron a cabo tres series experimentales.

En la primera serie experimental se prepararon ocho gatos adultos machos para registro convencional de sueño: EEG, electrooculograma y electromiograma. Además se implantaron electrodos en el cuerpo geniculado lateral del tálamo (CGL) para el registro de las ondas ponto-genículo-occipitales (PGO). En cuatro gatos se implantó un electrodo en forma de horquilla en el nervio vago izquierdo, caudal a la laringe y se estimuló durante un minuto, cinco veces con intervalos de una hora, durante 5 días (30 Hz, pulsos de 0.5 ms, 1.2-3.0 mA de intensidad). Se tomaron registros polisomnográficos de 23 horas y se compararon con registros

de los mismos gatos obtenidos antes de la estimulación vagal y con registros control de animales sin implante de electrodo en el nervio vago. Se analizó el tiempo total y el número de fases de cada uno de los estadios de sueño, y se cuantificó la densidad de las ondas PGO del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR). La ENV indujo, conductualmente: miosis ipsilateral, parpadeo, lengüeteo, contracciones abdominales, mirada hacia arriba, inmovilizaciones breves y súbitas, deglución y eventualmente bostezo y maullido. Con respecto al sueño se presentó un aumento significativo de la densidad de las ondas PGO, un aumento significativo del sueño MOR en el número de fases y en el tiempo total, y ocasionalmente, entradas súbitas del estadio de vigilia al sueño MOR (reflejo narcoléptico). Para la segunda serie experimental se implantaron 6 gatos adultos machos, de la misma forma que en la serie anterior. Se sometieron a 15 registros continuos de sueño de 23 horas, cinco de cada condición: línea base (LB), ENV (con los mismos parámetros que en la serie 1) y registros post-estímulo (RPE). Se analizó el espectro de potencia del EEG, el tiempo total y número de fases del sueño, la densidad de ondas PGO y las veces que se presentó el reflejo narcoléptico. Se obtuvieron los siguientes cambios significativos: aumento del Sueño de Ondas Lentas II e incremento en la potencia en las bandas de los husos de sueño (8-14 Hz) y de las ondas delta (1-4 Hz) con ENV y RPE; aumento del tiempo total, número de fases y de la densidad de ondas PGO del sueño MOR con ENV; disminución de vigilia en los RPE, y eventualmente se presentó el reflejo narcoléptico sólo con la ENV.

La tercera serie experimental consistió en analizar el efectos de la ENV y de la estimulación eléctrica del núcleo del tracto solitario (ENTS) sobre la actividad multiunitaria de estructuras bulbo pontinas y de la amígdala del lóbulo temporal en 6 gatos anestesiados, implantados en el núcleo del tracto solitario (NTS), en el núcleo central de la amígdala del lóbulo



temporal (AMc) y la región parabraquial (PBL), con electrodos concéntricos de acero inoxidable y el nervio vago izquierdo con un electrodo en forma de horquilla. Se llevó cabo la ENV, con parámetros similares a los de los experimentos crónicos; y subsecuentemente la ENTS con pulsos de 0.5ms de duración a 30 Hz y de 200 a 300  $\mu$ A.

Los resultados mostraron que la ENV induce un aumento en la actividad multiunitaria neuronal del NTS, PBL y AMc; además de la aparición de potenciales que se mantiene minutos después de las estimulaciones. Mientras que con la ENTS se observó un efecto similar en la PBL y AMc, además de presentarse cambios en la actividad electrográfica del nervio vago.

Considerando a las tres series experimentales, los resultados en general sugieren que la ENV influye en la actividad EEG y en el ciclo sueño-vigilia a través de sus aferentes que concurren en el núcleo del tracto solitario y que se proyectan rostralmente. También se destaca la importancia de hacer registros de 23 horas, ya que se observaron cambios a largo plazo, que se reflejaron en las entradas súbitas de vigilia a sueño MOR, en el aumento de las ondas PGO y el incremento del tiempo total del sueño MOR. Además, el aumento en sueño de ondas lentas y de la potencia de las bandas asociadas a éste, persistió en los días posteriores a la ENV. Así los efectos, que van más allá del momento de la ENV, podrían deberse a cambios plásticos provocados por la estimulación vagal.

## SUMMARY

The vagus nerve has not been considered in the sleep-wakefulness cycle mechanisms, in spite of being related anatomically and functionally to areas of the nervous system, mainly of the stembrain, which are essential for both the onset and maintenance of the sleep stages. One of the effects detected in the early works of vagus nerve electrical stimulation (VNS) was its influence over cerebral activation stages. Nevertheless, since most of the works in the cat have been made in acute preparations, the controversy remains about two subjects: the transitory activation/inactivation of the electroencephalogram (EEG), or about its influence over the sleep stages pattern through the course of hours and even days subsequent to the stimulation, this is, if the effect is persistent.

Therefore, the aim of the present study is to investigate the VNS effect over the behavior, the stages organization of the sleep-wake cycle and the EEG activity in cats in both chronic and acute preparations. Three experimental series were carried out. In the first one, eight male adult cats were prepared for conventional sleep recordings: EEG, electrooculogram and electromiogram. In addition, electrodes were placed in the thalamic lateral geniculate body for the record of the ponto-geniculate-occipital (PGO) waves. In four cats, the left vagus nerve was dissected at neck level, caudal to the larynx and implanted with a stainless steel hairpin-shape bipolar electrode, then it was stimulated during one minute, five times with intervals of one hour, during 5 days (30 Hz, pulses of 0,5 ms, 1.2-3.0 mA of intensity). 23 hours polysomnograph recordings were taken from and were compared with recordings of the same cats previous vagal stimulation and with animal control recordings, without vagus nerve electrode. The total time, the

number of each one of the sleep stages, and the density of PGO waves of the rapid eye movement (REM) sleep were analyzed with the following results: The VNS induces: ipsilateral myosis, blinking, licking, abdominal contractions, upward gaze, swallowing, and eventually yawning and compulsive eating, as well as an increase of PGO waves density and of the number of stages and total amount of REM sleep. In addition, there was a sudden transition from waking stage to REM sleep.

For the second experimental series, six male adult cats were implanted in the same way that in the previous series, then were submitted to 15 continuous sleep recordings of 23 hours divided in 5 recordings of the following conditions: baseline (BL), VNS and post-stimulus recording (PSR). EEG power spectrum, total time and number of sleep phases, PGO waves density, and the number of times the narcoleptic reflex was present (sudden transition from wakefulness to REM sleep) were analyzed in each recording. Significant changes were detected, such as enhancement of slow-wave sleep stage II, power increment in the bands corresponding to sleep spindles (8-14 Hz) and delta waves (1-4 Hz) with VNS and PSR; increment in total time, number of stages, and density of PGO waves in REM sleep with VNS; diminution of wakefulness in PSR, and the eventual appearance of narcoleptic reflex with VNS.

The third experimental series consisted in the analysis of the effects of both the VNS and the electrical stimulation of the nucleus of solitary tract (SNTS) over the multiunitary activity on structures of the medulla, pons and temporal lobe amygdala in six adult male cats in acute preparation. Concentric stainless steel electrodes were placed in the nucleus of solitary tract (NTS), in the central nucleus of the temporal lobe amygdala (AMc) and the parabraquial area (PBL), also, a hairpin-shape bipolar electrode was implanted in the left vagus nerve. The VNS

was done with similar parameters to those of the chronic experiments; and subsequently, the SNTS was made with pulses of 0.5ms of duration to 30 Hz and 200 to 300  $\mu$ A.

The results showed that the VNS induces an increase in the neuronal multiunitary activity of the NTS, PBL and AMc; in addition to appearance of potentials that remains minutes after the stimulation. Also, with the ENTs, a similar effect in the PBL and AMc, was observed. Besides, changes in the electrographic activity of the vagus nerve were as well observed.

Our results suggest that VNS, by means of vagus nerve afferences concurring in the nucleus of the solitary tract which project mainly rostrally, influence both EEG activity and sleep-wakefulness cycle. The relevance of 23-hours recordings must be emphasized, since long term changes, that were reflected in the sudden entrances of wake to REM sleep, in the increase of PGO waves and the total time of REM sleep, were observed. In addition, an increase in slow wave sleep and in the power of the associated bands, persistent through later days post VNS, was also observed. The effects that go beyond the VNS period may be due to plastic changes elicited by vagal stimulation.

## INTRODUCCIÓN

El sueño es una de las tantas áreas de estudio que se han desarrollado las neurociencias, existiendo múltiples formas de abordarlo. Desde buscar los mecanismos básicos que dan lugar a este fenómeno, hasta estudiar su característica más subjetiva: el contenido de las ensoñaciones. De uno a otro punto están los modelos farmacológicos, neurofisiológicos, de mapeo de alta resolución, sin olvidar a la bioquímica y la biología molecular.

El ciclo sueño-vigilia es un fenómeno que consiste en la alternancia entre el estado de vigilia y las diferentes fases del sueño, siendo descrito en varias especies, entre ellas el gato (*Felis catus*), que es un buen modelo para los estudios cronobiológicos del sueño y de otros ritmos fisiológicos, debido al que se adapta con facilidad a las condiciones experimentales de un laboratorio.

En este trabajo, se estudió el efecto de la estimulación eléctrica del nervio vago sobre la conducta, la organización de las fases del ciclo sueño-vigilia y la actividad EEG en gatos con preparación crónica y aguda. Primeramente, se señalan aspectos generales del sueño, siguiendo con los del ciclo sueño-vigilia en el gato, en particular los conductuales y poligráficos que son materia de los experimentos desarrollados. Para cerrar la parte de la revisión bibliográfica, se tiene el apartado de la estimulación del nervio vago y su relación con el sueño.

Posteriormente se exponen el planteamiento del problema, las hipótesis y los objetivos, continuando con la descripción de las tres series experimentales, dos llevadas a cabo en preparaciones crónicas y una en preparación aguda. En este punto se procuró hacer una exposición unitaria para evitar redundancias ya que en las series experimentales se hacen algunos procedimientos similares. Procediendo del mismo modo en los resultados y en la discusión.

Posteriormente, se hacen algunas consideraciones con respecto al trabajo, además de plantear una serie de perspectivas.

Cabe mencionar que con el fin de darle continuidad a los puntos principales de la tesis, la revisión bibliográfica acerca de los mecanismos fisiológicos generales del sueño de ondas lentas y del sueño de movimientos oculares rápidos, así como de la anatomía y fisiología general del nervio vago, son expuestas en un apéndice.

Finalmente se anexan el trabajo publicado y el manuscrito que ha sido enviado para su publicación donde el sustentante es primer autor.

## ASPECTOS GENERALES DEL SUEÑO

Los primeros estudios sobre el sueño fueron anecdóticos y basados en la experiencia subjetiva de los sujetos. Se le daba más importancia, en la mayoría de los casos, al contenido de las ensoñaciones. Posteriormente, los estudios se basaron en el análisis de los cambios a escala vegetativa: diámetro pupilar, presión arterial, frecuencia cardíaca y temperatura corporal. Alfred Maury (1862), sistematizó mediante observaciones en él mismo, el efecto de estímulos externos para desencadenar el contenido onírico. Estaba interesado particularmente en los fenómenos alucinatorios del inicio del sueño, que él llamó alucinaciones hipnagógicas.

Utilizando EEG, desarrollado por Richard Caton (1842-1926), que hizo posible el registro percutáneo, no invasivo de la actividad eléctrica del cerebro; el médico alemán Hans Berger (1929) inició las investigaciones dirigidas al análisis de los ritmos del EEG durante los diferentes estados de alertamiento, con lo cual se adelantó en el conocimiento del sueño.

Con el EEG se pudo determinar que el sueño es un proceso múltiple, con distintas etapas con cambios de frecuencia y voltaje en la actividad eléctrica del cerebro. A partir de estos elementos se clasificaron los estadios del sueño, según la porción de ritmos EEG que se presentan (Loomis et al., 1937; Dement y Kleitman, 1957). Aserinsky y Kleitman (1953), describieron que periódicamente los bebés movían los ojos con rapidez, sin abrirlos. Cuando hicieron registros EEG pudieron constatar que estos periodos se acompañaban de una aceleración de los ritmos, semejante a la que se encuentra al inicio del sueño o en la vigilia. Al extender sus experiencias al adulto, pudieron comprobar el carácter cíclico de estos periodos, que aparecen 4 ó 5 veces durante la noche, emergiendo de las fases del sueño lento. Además, descubrieron que si se despierta a un individuo en esta fase de movimientos oculares rápidos de los ojos, suele reportar

que estaba soñando. A este estado fisiológico particular del sueño, se le ha denominado: sueño romboencefálico, sueño paradójico, sueño rápido, sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) (del inglés Rapid Eye Movement, REM), entre otras; pero siempre haciendo referencia al mismo proceso. En el presente trabajo se utilizará el término sueño MOR.

Después de que Aserinsky y Kleitman descubrieron el sueño MOR humano; William Dement (1958), demostró que en los gatos tiene lugar una fase idéntica del sueño. Al mismo tiempo en Lyon Francia, Michel Jouvet y Francois Michel (1959), demostrarían que el sueño MOR se acompaña de una atonía muscular. Posteriormente Jouvet (1962), descubrió que esa atonía era causada por una inhibición activa procedente del tallo cerebral a la altura del puente, que con el paso del tiempo se identificaría como el centro cerebral del sueño MOR.

A partir de las observaciones de Bremer (1935) y posteriormente de Moruzzi y Magoun (1949), se consideró que el sueño era el resultado de una disminución de la vigilia, producto de la desaferentación sensorial, es decir, un proceso pasivo. Sin embargo, Hess (1944) logró producir una conducta similar al sueño por estimulación eléctrica de baja frecuencia en regiones paramedianas del tálamo; observándose posteriormente que esta conducta está asociada con ondas de gran amplitud y con descargas en huso (Hess et al., 1953). Demostrando así que el sueño es producto de la activación de regiones cerebrales específicas, es decir, un proceso activo. Otra vertiente de la investigación sobre el ciclo sueño- vigilia es la neurohumoral, propuesta por Pieron (1913), quien suponía que el inicio del sueño se debía a la acumulación de factores humorales (hipnotoxinas) y que algunos compuestos hipnógenos acumulados en la sangre o en el líquido cefalorraquídeo durante la vigilia, alcanzaban un nivel depresor de las zonas de integración de la vigilia. Desde entonces, han sido descritos varios factores hipnógenos: el ácido



láctico, el bióxido de carbono, el colesterol y otras distintas sustancias hipnógenas aisladas del dializado sanguíneo.

El número de investigaciones sobre el sueño ha crecido considerablemente, basándose en las más diversas técnicas, como las electrofisiológicas, farmacológicas, bioquímicas, histoquímicas, de imagenología, etc. Lo cual ha aportado información nueva, diferente, que establece correlaciones electrofisiológicas y neuroquímicas con la actividad mental y los niveles de conciencia, información que proporciona una visión distinta del sueño y que ha permitido estudiar su filogenia y ontogenia. Sin embargo, aún no conocemos en su totalidad el papel biológico que desempeña.

## **EL CICLO SUEÑO-VIGILIA DEL GATO**

En el gato se presentan cuatro fases en el ciclo sueño-vigilia: vigilia, sueño de ondas lentas I (SOL I), sueño de ondas lentas II (SOL II) y sueño MOR (Ruckebush y Gaujoux, 1976; Sterman et al., 1965; Ursin, 1968) (Fig. 1). Aunque comparte los mecanismos neurofisiológicos generales de la mayoría de los mamíferos (Fig. 2), la distribución temporal de las fases del ciclo sueño-vigilia del gato es diferente a la norma común de aquellos, debido a que su componente circadiano es débil en relación con los indicadores ambientales como la luz y la oscuridad (Lancel et al., 1991). Esto lo distingue, por ejemplo de la rata (Neuhaus y Borbely, 1978), el ratón (Mitler et al., 1977) y el hámster (Tobler y Jaggi, 1987) que predominantemente duermen durante el periodo de luz, o de la ardilla (Dijk y Daan, 1989) y el hombre los cuales duermen durante el periodo de oscuridad. En diversos estudios (Kuwabara et al., 1986; Lucas, 1979) se ha encontrado que no existe una influencia determinante de los indicadores ambientales de luz-oscuridad en el patrón de distribución de las fases los estadios del sueño, ya que éstos sólo actuarían como un reforzador de un ritmo endógeno (Valdés-Cruz, 1997).

El EEG durante el ciclo sueño-vigilia en el gato es muy regular, y muestra cambios en su espectro de potencia dependen del estado de vigilancia en el que se encuentre. En condiciones controladas, la densidad de la potencia del EEG en SOL y en sueño MOR no cambia sistemáticamente pero es sensible a las manipulaciones conductuales (Lancel et al., 1991, 1992) y a los tratamientos farmacológicos (Lancel, 1993).

### ***Aspectos conductuales y poligráficos***

#### **Vigilia**

### *Aspectos conductuales*

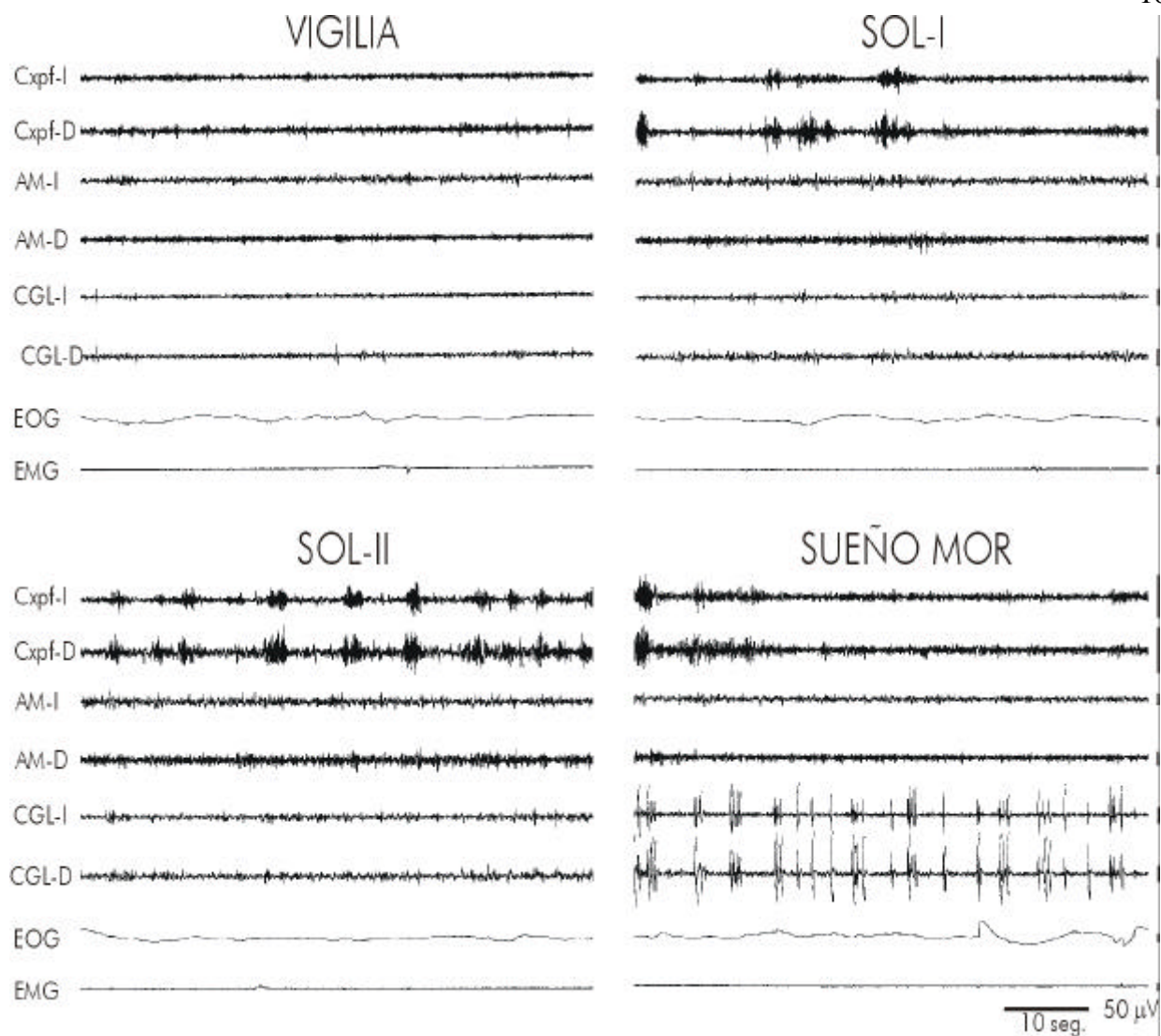
En un gato despierto se pueden observar gran variedad de conductas, desde espontáneas hasta conductas elaboradas en respuesta a la estimulación ambiental (reacción de orientación) (Ayala, 1976, 1983).

### *Aspectos poligráficos*

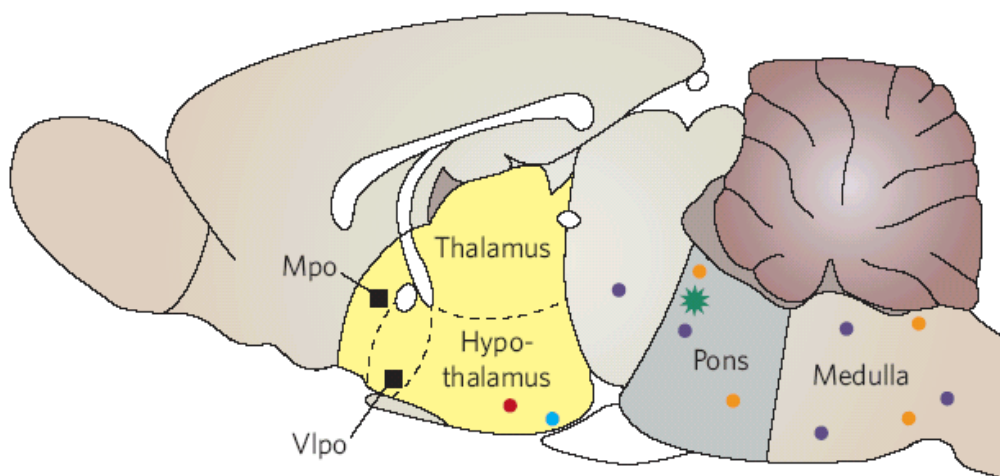
El estado de alerta muestra un EEG cortical y subcortical con frecuencias rápidas (gamma 30-50 Hz) de bajo voltaje (20-30  $\mu$ V), y una actividad de 5 a 7 Hz en la porción rostral del hipocampo. Durante la vigilia atenta y durante diversas conductas exploratorias aparece la actividad teta del hipocampo, que son oscilaciones de rítmicas de 4 a 12 Hz (Grastyan et al., 1959; Vanderwolf, 1969). Además, el tono muscular es elevado y existe un gran número de movimientos oculares (Jouvet, 1967a).

En la vigilia tranquila la actividad cortical alcanza una frecuencia entre 5 y 8 Hz; mientras que en el área CA1 del hipocampo y en la corteza perirhinal aparece a manera de salvas actividad de 80 a 200 Hz, llamada *ripples* (Chrobak y Buzsáki, 1996; Collins et al., 1999; Csicsvari et al., 1999).

Cuando el animal se encuentra atento y mueve los ojos en función de la estimulación externa, se registra una actividad eléctrica fásica que recibe el nombre de "potenciales de movimiento ocular" (Brooks, 1968; Brooks y Gershon, 1971), que pueden registrarse en el puente, en el CGL y en la corteza occipital; estos potenciales se presentan después del movimiento ocular y su amplitud depende de su velocidad y de la iluminación (Jouvet, 1972a).



**Figura 1.** Registro polisomnográfico de los distintos estadios del ciclo sueño-vigilia. Corteza prefrontal izquierda y derecha (Cxpf-I y D), Núcleo basolateral de la amígdala del lóbulo temporal izquierda y derecha (AM- I y D), Cuerpo geniculado lateral del tálamo izquierdo y derecho (CGL-I y D), Electrooculograma (EOG) y Electromiograma (EMG). Las características del trazo electrográfico y la conducta correspondiente a cada estadio se describen en el presente capítulo.



**Figura 2.** Esquema de una vista sagital medial de algunas poblaciones neuronales implicadas en los distintos estadios del sueño. Los círculos indican a las neuronas que disminuyen su actividad durante el sueño MOR. Los cuadros señalan las neuronas que se encuentran activas durante el sueño el asterisco señala al área donde se encuentran las neuronas que se activan para generar y mantener al sueño MOR. El área que comprende al tálamo e hipotálamo es necesaria para la generación del sueño de ondas lentas. Área preóptica medial (Mpo), área preóptica ventrolateral (Vlpo). Nomenclatura del dibujo en inglés. (Tomado de Siegel, 2005).

### Sueño de ondas lentas

En el gato el SOL se divide en dos etapas I y II, clasificados por el porcentaje de actividad lenta y de alto voltaje en el EEG durante el sueño (Dement y Kleitman, 1957; Rechtschaffen y Kales, 1968).

#### *Aspectos conductuales*

Durante la fase SOL I, el gato adopta la posición de "esfinge", manteniendo inicialmente la cabeza erguida, dejándola caer progresivamente, 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 (Jouvet, 1967a).

### *Aspectos poligráficos*

El EEG durante el SOL I se caracteriza por la aparición de husos de sueño (7-14 Hz), mezclados con ondas delta (1-4 Hz) de alto voltaje y con frecuencias de 13 a 26 Hz, además se estabiliza y disminuye el tono muscular en relación con la vigilia. La fase SOL II se caracteriza por la aparición en mayor proporción de la actividad delta y de actividad menor a 1 Hz sostenida y de alto voltaje, que en ocasiones alterna con la aparición de husos de sueño. (Steriade et al., 1993a; Steriade y Timofeev, 2003).

Alternando con los husos del sueño y con la actividad lenta menor a 1 Hz, en la neocorteza aparece actividad de 80 a 200 Hz (*ripples*) (Grenier et al., 2001; Steriade et al., 1993b), que depende de la despolarización neuronal y su origen es intracortical. Sin embargo, aunque los *ripples* han sido identificados durante el sueño lento, no son exclusivos de éste, ya que también se han registrado en la vigilia y en el sueño MOR relacionándolos con posibles procesos plásticos que ocurren en los distintos estados de vigilancia (Steriade et al., 2001).

Se han descrito varios de los mecanismos específicos de la relación entre el tálamo y la corteza cerebral para la generación de los ritmos EEG del sueño lento (Steriade et al., 1991a; Sillito et al., 1994). En el Tálamo y la corteza cerebral durante las etapas de SOL I y II se ponen en marcha circuitos, donde participan neuronas de proyección que utilizan glutamato como neurotransmisor e interneuronas inhibitorias gabaérgicas (McCormick, 1992; Reinoso-Suárez, 1997).

Durante el SOL, aparecen los husos de sueño que se caracterizan por una actividad oscilatoria a 7-14 Hz con una duración de 1 a 2 segundos. En diferentes trabajos se ha determinado que el marcapasos de esta actividad se sitúa en el núcleo reticular del tálamo (NRT) (Deschenes et al., 1984; Steriade y Deschenes, 1984; Steriade et al., 1985, 1996), el cual dispara brotes de potenciales a la frecuencia de los husos de sueño (Bal et al., 1995a, 1995b). Los husos del sueño pueden ser abolidos de los sistemas tálamo-corticales después de la lesión de neuronas de NRT o por el seccionamiento que separe a éste de las neuronas tálamo-corticales (Steriade et al., 1985). Sin embargo, los husos siguen apareciendo en el NRT aunque sea desafrentado del tálamo dorsal y de la corteza cerebral (Steriade et al., 1987). Además, la ritmicidad de los husos puede ser registrada en neuronas aisladas de este núcleo (Wang y Rinzel, 1993; Destexhe et al., 1994; Bazhenov et al., 2000).

El NRT está básicamente constituido por neuronas gabaérgicas (Fuentealba et al., 2004), por lo que generan potenciales sinápticos inhibitorios en las neuronas talámicas de proyección cortical a la frecuencia de los husos de sueño. Debido a que las neuronas talámicas de relevo cortical disparan potenciales de acción a niveles hiperpolarizantes (espigas de  $Ca^{2+}$  de bajo umbral) (Jahnsen y Llinás, 1984), y transmiten esta ritmicidad hacia la corteza cerebral (Steriade y Deschenes, 1988), se generan potenciales sinápticos excitatorios rítmicos y potenciales de acción a la frecuencia de los husos de sueño en las neuronas de la corteza cerebral, los cuales se recogen en el EEG.

Las ondas delta son otra de las actividades rítmicas que caracteriza el EEG durante el SOL. Se ha considerado que se generan en la corteza cerebral, ya que en los trabajos realizados en gatos atalámicos se mostraba la presencia de ondas delta en el EEG (Villablanca, 1974). Sin

embargo, las neuronas talámicas tienen propiedades electrofisiológicas que generan descargas de potenciales de acción a esta frecuencia que contribuyen a generar el patrón de las ondas delta. Esta actividad delta del tálamo se demostró en primer lugar *in vitro* (Soltesz et al., 1991; McCormick y Pape, 1990) y posteriormente fue descrita en gatos (Steriade et al., 1991a; Curró-Dossi et al., 1992). La actividad delta del tálamo se genera por la activación de una corriente catiónica ( $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ ) denominada  $I_h$  que tiende a llevar al potencial de membrana a niveles más despolarizados. El cambio de potencial de membrana generado por esta corriente es suficiente para disparar un potencial de acción  $\text{Ca}^{2+}$  de bajo umbral, durante la activación de éste, la corriente  $I_h$  se inactiva y vuelve a activarse después de que ha terminado el potencial de acción. Este ciclo se repite siempre en el intervalo de 1-4 Hz, este nivel de hiperpolarización del potencial de membrana en el que las neuronas talámicas oscilan a la frecuencia delta se alcanza de forma natural durante el SOL (McCarley et al., 1983).

Registros intracelulares en gatos durante el sueño espontáneo muestran que el potencial de membrana se hiperpolariza al comienzo del SOL I y alcanza los valores más negativos durante el SOL II que tiene ondas lentas de gran amplitud (Hirsch et al., 1983). Las descargas de las neuronas talámicas se transmiten a la corteza cerebral y contribuyen a la generación de las ondas delta que aparecen en el EEG, siempre que esta actividad aparezca sincrónicamente en las neuronas talámicas. Consecuentemente, registros intracelulares en neuronas de la corteza cerebral de gatos anestesiados o durante el sueño espontáneo presentan potenciales a la frecuencia de 1-4 Hz, generados por esta actividad delta talámica; pero además por la actividad de otras neuronas corticales como las piramidales que disparan brotes de potenciales de acción rítmicos a esta frecuencia, que contribuirían a la actividad delta mediante proyecciones cortico-corticales



(Steriade et al., 1993a). Sumado a lo anterior, la actividad de las neuronas corticales a una frecuencia menor a 1 Hz se correlaciona con brotes de ondas delta en el EEG (Steriade et al., 1993a, 1993b, 1993c).

La actividad menor a 1 Hz, demostrada en primer lugar en el gato anestesiado, también se registra en gatos durante el SOL espontáneo y en el EEG humano durante el SOL nocturno (Steriade et al., 1993b, Achermann y Borbely, 1997; Simon et al., 2000). Esta ocurre cuando la fase despolarizante coincide con la presencia de potenciales excitatorios e inhibitorios simultáneamente, indicando que tanto las neuronas excitatorias de la corteza cerebral como interneuronas inhibitorias se sincronizan por este ritmo. Además, no aparece de forma aislada en las neuronas de la corteza cerebral, sino que ocurre sincrónicamente en grandes áreas corticales debido a las conexiones cortico-corticales; por tanto, cuando se cortan estas conexiones, la ritmicidad menor a 1 Hz no desaparece, pero sí la sincronización entre áreas corticales (Amzica y Steriade, 1995).

La actividad de menos de 1 Hz también puede observarse en las neuronas talámicas de relevo cortical y en las neuronas del NRT (Steriade et al., 1993c); sin embargo, su contribución no es esencial para la generación de ésta, ya que puede registrarse en gatos en los que se ha lesionado el tálamo (Steriade et al., 1993a), y se ausenta en el tálamo de gatos decorticados (Timofeev y Steriade, 1996), además de aparecer en preparaciones in vitro de la corteza cerebral (Sánchez-Vives y McCormick, 2000).

Al existir una actividad tan sincrónica en la corteza cerebral, que recluta tanto neuronas de proyección como interneuronas en áreas extensas de la corteza cerebral, ésta se puede difundir a áreas subcorticales como los núcleos del cordón posterior (gracilis y cuneatus) donde se modulan

las respuestas a estímulos somatosensoriales (Mariño et al., 1996) y a otras áreas como el septum medial, la banda diagonal de Broca y la sustancia inominata que contienen neuronas colinérgicas y gabaérgicas que proyectan a la corteza cerebral (Mesulam et al., 1983; Núñez, 1996; Semba, 2000). Las proyecciones colinérgicas y gabaérgicas modulan la actividad de las neuronas corticales y sus respuestas a estímulos sensoriales (Golmayo et al., 2003). En animales anestesiados, estas neuronas oscilan sincrónicamente con las neuronas corticales a la frecuencia delta y a la menor de 1 Hz y contribuyen a mantener esta actividad en la corteza cerebral.

La interacción entre la actividad cortical y la talámica tiene gran importancia porque modifica las oscilaciones generadas en el tálamo y la incluye dentro de una red neuronal tálamo-cortical oscilante, que finalmente va a generar el patrón característico del EEG durante el SOL (Amzica y Steriade, 1998). La actividad menor a 1 Hz generada en la corteza cerebral se transmite hacia el tálamo mediante la proyección cortico-talámica. Estas fibras son glutamatérgicas, provocando despolarizaciones en las neuronas talámicas de relevo, el bloqueo de las oscilaciones talámicas a la frecuencia delta y el disparo tónico de las neuronas del tálamo (Nita et al., 2003). La proyección cortico-talámica activa a las neuronas del NRT y desencadena la descarga de husos de sueño (Amzica y Steriade, 1997).

### **Transición SOL-MOR**

Después de algunos minutos de iniciado el SOL II, aparecen cambios en el EEG que dan inicio a una fase de transición entre el SOL II y el sueño MOR; aunque a ésta se le ha considerado de manera general como parte del SOL. Los cambios generados en la actividad del EEG durante este periodo no son de manera abrupta sino se van dando de forma gradual (Capitani et al., 2005).

Inicialmente aparecen los potenciales PGO que preceden al sueño MOR (20 a 30 segundos) (Tomas y Band, 1967), la densidad de la potencia de la banda delta comienza a decender mientras que la banda teta y sigma (12 a 16 Hz) aumentan progresivamente (Benington et al., 1994); hasta que finalmente se instala por completo la actividad característica del sueño MOR.

En distintos trabajos a este periodo de transición entre el SOL II y el sueño MOR se le ha denominado sueño fásico de ondas lentas (SFOL) (Tomas y Band, 1967), estadio intermedio del sueño (Gottesmann, 1992), pre-sueño MOR (Ruigt et al., 1989) o sueño de transición (Mandile et al., 1996); haciendo referencia al mismo fenómeno.

## **Sueño MOR**

### *Aspectos conductuales*

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

El sueño MOR ocurre de una manera cíclica después de un periodo de SOL que corresponde aproximadamente de 10 a 15 minutos y su duración promedio es de 5 minutos.

### *Aspectos poligráficos*

El sueño MOR se caracteriza por la actividad rápida EEG, atonía muscular, los movimientos rápidos de los ojos y los potenciales PGO. Los componentes poligráficos que caracterizan al sueño MOR han sido clasificados de acuerdo a su ocurrencia temporal en dos tipos: fenómenos tónicos y fásicos.

Los fenómenos tónicos son aquellos que persisten de manera continua durante todo el periodo del sueño MOR: la actividad EEG rápida, la atonía muscular y la actividad teta del hipocampo. Los fenómenos fásicos se van presentando durante breves periodos de manera repetitiva durante este estadio de sueño: los movimientos oculares rápidos, la actividad PGO, las contracciones de los músculos (mioclonias) y las fluctuaciones cardio-respiratorias.

La actividad EEG rápida (20 a 30 Hz) de bajo voltaje, se presenta en regiones diencefálicas, mesencefálicas y corticales. Lesiones en la región donde se localizan los núcleos reticularis pontis caudalis (NRPC) y reticularis pontis oralis (NRPO) suprimen la actividad rápida cortical tanto en la vigilia como en el MOR (Jouvet, 1962). La actividad generada en el NRPC y NRPO genera una despolarización de las neuronas tálamo-corticales que influye en la activación de amplias zonas de la corteza (Sakai, 1985; Curró-Dossi et al., 1991; Steriade et al., 1991b). Neuronas mesopontinas de naturaleza colinérgica presentan descargas tónicas de alta frecuencia, similares a las que ocurren durante la activación cortical del sueño MOR (El Mansari et al., 1989, 1990; Steriade et al., 1990)

La actividad teta del hipocampo es generada en el septum y aparece de manera continua en la porción dorsal y ventral del hipocampo. El ritmo teta está presente en todos los estados conductuales, aunque se muestra en su forma más pura y sincronizada en la vigilia activa y el sueño MOR (Gaztelu et al., 1994). En animales despiertos, aparece en brotes y ha sido asociada a

conductas de orientación y con el procesamiento, almacenamiento y evocación de la memoria. Durante el sueño MOR la actividad teta es mas regular que en la vigilia (Jouvet, 1962; Arnolds et al., 1979). Además, se ha postulado que durante el sueño MOR los controles homeostáticos están disminuidos o suprimidos y el ritmo teta podría servir de organizador temporal alternativo de los ritmos autonómicos durante éste (Pedemonte et al., 1999, 2003).

Las ondas o actividad PGO, son llamadas así porque en estas tres estructuras y en ese orden registraron inicialmente (Ayala, 1983); primero Jouvet y Michel (1959) en el puente, posteriormente Mikiten y colaboradores (1961) en el CGL y Mouret y colaboradores (1963) en la corteza occipital. Es posible registrar actividad PGO en el núcleo oculomotor (Bizzi y Brooks, 1963), el colículo superior (Calvet et al., 1964), el cerebelo, la corteza auditiva y el núcleo del nervio trigémino (V par craneal) (Roffwarg et al., 1979), en el cuerpo geniculado medio (Roffwarg et al., 1979) y en algunas estructuras talámicas como el núcleo pulvinar, la habénula, el núcleo central lateral y el núcleo lateral posterior (Hobson, 1964), así como en amígdala, giro del cíngulo e hipocampo (Calvo y Fernández-Guardiola, 1984). Las estructuras involucradas en la generación de los potenciales PGO se localizan en redes neuronales de la región pontina, entre ellas, la región dorsolateral del tegmento pontino (TP), el tegmento pedúnculo pontino (TPP), una región vecina al locus coeruleus (LC) denominada "Área X" y la región parabraquial (PBL) (Callaway et al., 1987; Datta, 1995, 1997; Sakai, 1986).

La PBL cuenta con cúmulos de células colinérgicas (Dolabela y Singer, 1987; Jones y Beaudet, 1987), que al ser activadas por agonistas colinérgicos, provoca la instalación de potenciales PGO independientes de los estadios del sueño (Datta et al., 1992), y produce un aumento a largo plazo de SFOL y del sueño MOR (Calvo et al., 1992; Hobson et al., 1993;

Quattrochi et al., 1998). Los potenciales PGO se propagan hacia el sistema visual (Bizzi y Brooks, 1963), la corteza del sistema auditivo y al sistema oculomotor (núcleos de los pares craneales III, IV y VI) para provocar los movimientos oculares del sueño MOR (Cespuglio et al., 1976).

Los movimientos oculares rápidos, se presentan desde el inicio del MOR, con una frecuencia de 60-70 movimientos por minuto y difieren de los movimientos oculares de la vigilia por su velocidad, distribución temporal y por su patrón de ocurrencia (Jeannerod y Mouret, 1963). Se presentan en forma aislada y en forma de salvas cortas (5-10 movimientos). Pero la manera más característica es en salvas prolongadas de 50 movimientos aproximadamente. Éstos se originan a nivel pontino y son regulados a nivel del mesencéfalo y del colículo superior; por lo que se sugiere que los mecanismos fisiológicos de los movimientos oculares de la vigilia y del sueño MOR son diferentes (Calvo, 1983; Wehrle, 2005).

La atonía muscular del gato durante el sueño MOR, está controlada por regiones del LC y el TP (Jouvet y Delorme 1965; Henley y Morrison, 1974; Sastre et al., 1978; Morrison, 1979). La región involucrada en la pérdida de atonía incluye la porción medial del locus coeruleus-alfa (LC- $\alpha$ ) y la parte dorsolateral del NRPO y NRPC; Sakai (1980) designó a esta zona como área peri-locus coeruleus-alfa (Peri-LC- $\alpha$ ). Las células de esta región ejercen un efecto tónico excitador en las neuronas del núcleo reticularis magnocelularis del bulbo raquídeo, el cual inhibe las motoneuronas espinales durante el sueño MOR (Sakai, 1985; 1986). Las proyecciones descendentes de las neuronas colinérgicas mesopontinas en el TPP hacia la formación reticular pontomedular (Lai et al., 1993; Mitani et al., 1988; Shiromani et al., 1990; Takakusaki et al., 1996), son las mediadoras de la atonía muscular a través de tracto retículo espinal (Chase y

Morales, 1990; Takakusaki et al., 1994). Lesiones en la región caudal del LC y el TP provocan la aparición del tono muscular durante el sueño MOR, lo que permite desplegar conductas elaboradas, como huida, furia, agresión y reacciones de orientación, mientras que permanece con los ojos cerrados (Jouvet y Michel, 1959); este fenómeno ha sido corroborado por varios autores y se le ha denominado "conducta onírica del gato" (Jouvet y Delorme, 1965; Sastre y Jouvet, 1979, Hendriks et al., 1982).

El sistema retículo-espinal está involucrado en las sacudidas fásicas de los músculos de la cara y de los miembros distales (Marchiafava y Pompeiano, 1964; Gassel, et al., 1964, 1965), y se ha podido asociar la actividad unitaria de las células de la formación reticular con los movimientos asociados al sueño MOR (Kohlmeier et al., 1997; Siegel y Tomaszewski 1983; Siegel, et al., 1977, 1983; Vertes, 1977).

Durante el sueño MOR, se presentan cambios autónomos atribuidos a la PBL, entre ellos el aumento de la tasa cardíaca, de la presión sanguínea y de la respiración, por la relación directa que tiene con el complejo vagal (Cechetti, 1987; Ruggiero et al., 1994; Saper y Loewy, 1980; Saper, 1982).

## LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE AFERENTES VAGALES

La acción depresora que ejerce el nervio vago sobre la actividad contráctil del corazón, fue el primer proceso inhibitorio descrito, analizado inicialmente por Volkmann en 1838 y posteriormente por los hermanos Weber (1845), que a partir de estas observaciones, dieron origen al concepto de inhibición nerviosa. Posteriormente, Traube (1847) estudió el efecto de la estimulación eléctrica del nervio vago (ENV) sobre la respiración, permitiendo el diseño de observaciones experimentales cuyo objetivo principal era hacer evidente el proceso de inhibición central.

En el siglo XX, el farmacólogo austriaco Otto Loewi y el fisiólogo inglés Henry Dale, compartían el Premio Nobel de fisiología y medicina en 1936 por sus investigaciones y descubrimientos acerca de la transmisión química de los impulsos nerviosos. Loewi fue acreedor de tal reconocimiento gracias a sus experimentos de perfusión cruzada de corazón, iniciados en 1921, que consistía en extraer dos corazones de ranas y colocarlos en un mismo recipiente (sin que existiera entre ellos ningún contacto) y posteriormente estimular el nervio vago de un primer corazón y transferir el líquido de perfusión de éste a un segundo corazón. Si descendía, como se demostró afirmativamente, el ritmo cardiaco del corazón receptor, entonces el efecto debía de estar mediado por una sustancia química que liberaba el nervio vago estimulado. Loewi llamó *vagusstoff* (sustancia vagal) a la sustancia química que aminora el ritmo del corazón (Loewi y Navratil, 1926); más tarde se demostró que se trataba de la acetilcolina, que Dale ya había aislado en 1914.



La ENV se ha propuesto como tratamiento alternativo para una serie de padecimientos psiquiátricos (Kosel y Schlaepfer, 2003). Principalmente ha sido utilizada como tratamiento para el control de las crisis parciales y complejas de pacientes refractarios al tratamiento farmacológico (Ben-Menachem et al., 1994; Terry et al., 1992; Uthman et al., 1993; Wilder et al., 1991). Sin embargo, la naturaleza del efecto anticonvulsivo es desconocida, (para revisión de este punto ver Magdaleno-Madrigal, 2004)

La ENV puede provocar tanto activación como desactivación del EEG, dependiendo de los parámetros de estimulación (frecuencia, intensidad y duración). Se ha demostrado (Chase et al., 1966, 1967) que los cambios observados en el EEG están asociados con la activación de los distintos tipos de fibras específicas del vago. En gatos, estimulando de 20 a 50 Hz con 10 V de intensidad, y a 70 Hz con intensidad mayor de 3 V, se produce actividad rápida y de bajo voltaje en el EEG, mientras que a intensidades menores de 3V producen actividad lenta del EEG. Las intensidades y frecuencias que producen activación son las que pueden activar fibras que conducen de 1 a 15 m/s (Chase y Nakamura, 1968).

La ENV a nivel cervical produce potenciales evocados en la corteza cerebral (Dell y Olson, 1951a; O'Brien et al., 1971; Car et al., 1975), el hipocampo (Serkov y Bratus, 1970), el tálamo (Dell y Olson, 1951a,b; Car et al., 1975), y el cerebelo (Dell y Olson, 1951a; Hennemann y Rubia, 1978).

Con la tomografía por emisión de positrones, se reportó una activación importante del cerebelo, giro temporal medio, tálamo y putamen, al estimular el nervio vago izquierdo (Ko et al., 1996). Utilizando la misma técnica, se observó que la ENV produce la activación de la parte inferior de los hemisferios, el giro post central derecho, la parte rostral y dorso central de la

médula oblongada, el hipotálamo, el tálamo y las cortezas insulares; además de disminuir la actividad del hipocampo, la amígdala y el giro del cíngulo (Henry et al., 1998).

Clínicamente, los pacientes tratados con ENV pueden presentar algunos efectos adversos, sin embargo, estos son poco severos o moderados y casi siempre desaparecen cuando la intensidad de la estimulación es reajustada. No se han detectado efectos severos de tipo cardiovascular, cardiacos, pulmonares o gastrointestinales, los pacientes sólo han reportado sensaciones de hormigueo o contracciones en el cuello durante la estimulación, además de ronquera en algunos casos (Upton et al., 1991).

La ENV puede influir en la liberación de ciertos péptidos, entre ellos la Sustancia P (Helke y Hill, 1988), la colecistoquinina, la neurotensina, el CGRP (del inglés calcitonin gene-related peptide) y la somatostatina (Sykes et al., 1994), que modulan la información visceral mediada por glutamato que va de la PBL, al tálamo ventrobasal. Experimentos con microdiálisis muestran que la ENV aumenta la liberación endógena de glutamato (Allchin et al., 1994; Granata et al., 1984)

## **ESTIMULACIÓN DEL NERVIO VAGO Y SUEÑO**

Uno de los efectos detectados en los primeros modelos experimentales de ENV es la inducción de sueño (Koch, 1932; Dell y Olson 1951a). Grastyan (1952), fue el primero en describir la aparición ocasional de husos de sueño durante la ENV. Padel y Dell (1965), usando la técnica de encéfalo aislado, obtuvieron lo que llamaron sueño vago-aórtico, caracterizado por una miosis inmediata, seguida por la actividad lenta cortical que se mantiene después de finalizada la ENV.

Dependiendo de los parámetros de estimulación vagal utilizada en modelos animales de

experimentación, se puede producir actividad lenta o rápida del EEG (Puizillout et al., 1974; Puizillout, 1986). La estimulación del bulbo raquídeo (30-50 Hz, 1-2 V) en la región del NTS produce SOL (Puizillout et al., 1973; Puizillout y Foutz, 1976). En trabajos pioneros (Bremer y Bonnet, 1951), la ENV con frecuencias de 24 a 50 Hz produjo actividad rápida en la corteza órbito-frontal. Usando preparaciones de encéfalo aislado en gatos, se demostró que la ENV (50 Hz, y de 0.1 a 2 V) produce activación cortical e inhibe periodos de husos de sueño (Zanchetti et al., 1952), del mismo modo que la aplicación de corriente directa al nervio vago (Peñaloza-Rojas, 1964).

Puizillout y Foutz (1977), observaron que la ENV produce ciclos completos de las fases de sueño, y aumenta el SOL precedido de sueño MOR, en gatos con y sin privación de sueño MOR, además promueve un reflejo narcoléptico (entrada súbita de vigilia a MOR) en gatos privados de sueño. Los mismos autores (1976), encontraron un aumento en la frecuencia de los episodios de sueño MOR, sugiriendo que la ENV puede ser una factor de disparo de este estadio de sueño, pues se incrementa la duración de sus episodios más allá del factor de mantenimiento.

Posteriormente se describió el incremento del fluido sanguíneo del cíngulo y el tálamo, además de la disminución de la serotonina durante la ocurrencia espontánea de sueño durante ENV (Garnett et al., 1992). Asimismo, la ENV en el gato incrementa el disparo celular en el núcleo ventro-posteromedial del tálamo contralateral (Saleh y Cechetto, 1993), y puede afectar el sistema de transmisión monoaminérgico.

Analizando la expresión de la proteína nuclear fos, en ratas con ENV se encontró una alta actividad neuronal en el cíngulo, el núcleo hipotálmico ventromedial, el núcleo arcuato, el NMDV, el LC, el núcleo A5 y en el núcleo coclear (Naritoku et al., 1995).

En nuestro laboratorio (Fernández-Guardiola et al., 1998, 1999), reportamos que la ENV induce cambios en el ciclo sueño-vigilia en gatos sometidos al kindling amigdalino.

Posteriormente describimos que la ENV produce un aumento en el tiempo total y el número de fases del sueño MOR. Además de un aumento de la densidad de los potenciales PGO del mismo estadio de sueño y se presentó ocasionalmente el reflejo narcoléptico (Valdés-Cruz et al., 2002).

Por último, usando métodos de análisis espectral y de representación tridimensional, que desarrollamos en nuestro laboratorio (Fernández-Mas et al., 1998), reportamos un aumento en la potencia durante el SOL en las bandas de las ondas delta (1-4 Hz) y los husos del sueño (8-14 Hz) (Valdés-Cruz et al., 2005). En estos trabajos se destacó la importancia de hacer registros de 23 horas, ya que se observaron cambios de larga duración sobre el sueño.

El área donde proyectan la gran mayoría de las aferencias del nervio vago, es el NTS, que está involucrado en mecanismos del ciclo sueño-vigilia. Vigier y Portailier (1979), describieron proyecciones del área postrema hacia el NTS y hacia el LC, y se han descrito aferentes y eferentes de estos núcleos con el NMDV (Vigier y Roubier, 1979). Se ha propuesto que existe una influencia serotoninérgica del NTS con el LC, que estaría implicada en el ciclo sueño-vigilia (Nosjean et al., 1987), ya que la destrucción bilateral o eliminación funcional de la región del NTS es seguida de un estado de insomnio (Bremer, 1977; De Andrés, 1998).

La ENV puede producir profundos efectos sobre el funcionamiento del sistema nervioso, de ahí los cambios en el EEG y los estados del sueño en animales experimentales. Dichos efectos podrían ser mediados por la activación aferente del NTS y diversos centros de la formación reticular del tallo cerebral (Rutecki, 1990).

Por lo anterior, el propósito de este trabajo fue estudiar el efecto de la ENV sobre la organización temporal de las fases del ciclo sueño-vigilia en el gato no anestesiado con libertad de movimiento, analizando el efecto a largo plazo sobre la actividad del EEG de los distintos estadios de sueño. Además de analizar los efectos de la ENV sobre la actividad multiunitaria de la región bulbo-pontina y del complejo amigdalino en gatos anestesiados.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se ha considerado que en general el nervio vago y el complejo vagal no juegan algún papel esencial en los mecanismos de los estadios del ciclo sueño-vigilia; a pesar de estar relacionado anatómicamente y funcionalmente con áreas del sistema nervioso, principalmente del tallo cerebral, que son esenciales para la aparición y mantenimiento de los estadios del sueño. Además, desde los trabajos pioneros de ENV se detectó el efecto que ésta tiene sobre los estados de activación cerebral. Sin embargo, debido a que la mayoría de los trabajos han sido con preparaciones agudas en el gato, existe la controversia en definir si el efecto de la ENV es sólo sobre la activación o desactivación transitoria de la actividad del EEG, o si también influye en el patrón de los estadios del sueño en el transcurso de horas e incluso días posteriores a la estimulación, es decir que el efecto sea persistente. Por lo tanto en el presente proyecto se plantea investigar el efecto de la ENV a largo plazo sobre la organización temporal de los estadios del ciclo sueño-vigilia, de la actividad EEG y de la conducta en gatos; explorando a su vez si el efecto de la estimulación es persistente una vez finalizada.

## **HIPÓTESIS**

- I. Las fibras aferentes del nervio vago tienen proyecciones hacia áreas involucradas en los mecanismos del sueño, por lo tanto la estimulación eléctrica del nervio vago debe provocar cambios en la distribución temporal de los estadios del ciclo sueño-vigilia en gatos con libertad de movimientos, que persistirá después de finalizada la estimulación.
- II. La estimulación eléctrica del nervio vago provocaría cambios en el espectro de potencia del EEG de los estadios del ciclo sueño-vigilia durante los días de estimulación y en los días posteriores a ésta.

- III. Las conductas de tipo vegetativo provocadas por la estimulación del nervio vago en animales con preparación crónica presentarían un fenómeno similar a la habituación por la reiteración del estímulo.
- IV. La estimulación eléctrica del nervio vago en animales con preparación aguda provocaría cambios en la actividad multiunitaria en áreas de proyección primaria que se mantienen después de haber concluido la estimulación.

## **OBJETIVOS**

- I. Describir el efecto de la ENV a largo plazo sobre la distribución temporal de las fases del ciclo sueño-vigilia en gatos con libertad de movimientos.
- II. Analizar los cambios en el espectro de potencia del EEG durante los días de ENV y en los cinco días posteriores a la última estimulación.
- III. Analizar los cambios en la ocurrencia y persistencia de las conductas provocadas durante la estimulación eléctrica del nervio vago.
- IV. Describir en animales con preparación aguda los cambios en la actividad multiunitaria en áreas de proyección del nervio vago durante y después de la ENV.

Para el presente proyecto se desarrollaron tres series experimentales, dos con los gatos en preparación crónica en libertad de movimiento y una con animales en preparación aguda y anestesiados. La primera serie experimental estuvo diseñada para cubrir el primer objetivo. En ésta se analizó el efecto de la ENV sobre los estadios del sueño comparando gatos control, sin implante de electrodo en el nervio vago, con los gatos implantados antes de ser estimulados y con

la ENV. La segunda serie experimental fue elaborada para indagar que tanto persiste el efecto de la ENV sobre los estadios del ciclo sueño-vigilia y sobre la potencia del EEG de los mismos, analizando los cambios que podrían ser persistentes hasta cinco días posteriores a la finalización de la estimulación, lo cual se circunscribe al segundo objetivo.

Las preparaciones de las series experimentales anteriores permiten observar la conducta de los animales provocada por la ENV. Por lo tanto, se llevó a cabo el análisis de la ocurrencia y persistencia de las conductas inducidas durante la ENV, lo que pudieran indicarnos procesos de habituación o sensibilización, siendo el planteamiento del tercer objetivo.

La tercera serie experimental, que cubre al cuarto objetivo, se llevó a cabo de manera paralela a las otras dos. Su finalidad fue analizar el efecto que de manera inmediata y a corto plazo tiene la ENV, sobre la actividad multiunitaria del la PBL y el núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal (AMc). Además se analizó el efecto de la estimulación del NTS (ENTS) sobre la actividad del propio nervio vago.

De todos los experimentos se expondrá la metodología y resultados, finalizando con una discusión general y el planteamiento de perspectivas de trabajo que se desprenden del presente proyecto. Además se anexan la publicación correspondiente a la primer serie de experimentos y el manuscrito de la segunda serie de experimento que ha sido enviada para su publicación.

## **MÉTODO**

Todos los experimentos se hicieron bajo las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio de la SAGARPA (NOM -062-ZOO-1999) y aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente.



la ENV. La segunda serie experimental fue elaborada para indagar que tanto persiste el efecto de la ENV sobre los estadios del ciclo sueño-vigilia y sobre la potencia del EEG de los mismos, analizando los cambios que podrían ser persistentes hasta cinco días posteriores a la finalización de la estimulación, lo cual se circunscribe al segundo objetivo.

Las preparaciones de las series experimentales anteriores permiten observar la conducta de los animales provocada por la ENV. Por lo tanto, se llevó a cabo el análisis de la ocurrencia y persistencia de las conductas inducidas durante la ENV, lo que pudieran indicarnos procesos de habituación o sensibilización, siendo el planteamiento del tercer objetivo.

La tercera serie experimental, que cubre al cuarto objetivo, se llevó a cabo de manera paralela a las otras dos. Su finalidad fue analizar el efecto que de manera inmediata y a corto plazo tiene la ENV, sobre la actividad multiunitaria del la PBL y el núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal (AMc). Además se analizó el efecto de la estimulación del NTS (ENTS) sobre la actividad del propio nervio vago.

De todos los experimentos se expondrá la metodología y resultados, finalizando con una discusión general y el planteamiento de perspectivas de trabajo que se desprenden del presente proyecto. Además se anexan la publicación correspondiente a la primer serie de experimentos y el manuscrito de la segunda serie de experimento que ha sido enviada para su publicación.

## **MÉTODO**

Todos los experimentos se hicieron bajo las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio de la SAGARPA (NOM -062-ZOO-1999) y aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente.

## Animales

Para las tres series experimentales se utilizaron 20 gatos adultos machos con un peso de entre 3800 y 4500 g. 8 para la primera serie de los cuales 4 fueron experimentales y 4 controles; 6 para la segunda serie experimental, y para la tercera serie en preparación aguda se utilizaron 6 gatos (Tabla 1).

### *Preparación de los animales*

<i>Serie Experimental</i>	<i>Número de gatos</i>	<i>Implante de electrodos</i>		<i>Anestesia</i>
1 (Crónica)	8	4 Control		CxPf, Am, CGL, EOG y EMG Pentobarbital Sódico
		4 ENV	Nervio Vago	
2 (Crónica)	6	CxPf, CGL, EOG, EMG y Nervio Vago		Halotano
3 (Aguda)	6	NTS, PBL, AMc y Nervio Vago		Ketamina y Xilazina

**Tabla 1.** Preparación de los animales en las tres series experimentales. ENV (estimulación del nervio vago), CxPf (corteza prefrontal), CGL (cuerpo geniculado lateral del tálamo), NTS (núcleo de tracto solitario), PBL (región parabraquial), AMc (núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal), Am (núcleo basolateral de la amígdala del lóbulo temporal), EOG (electro-oculograma), EMG (electrmiograma).

## Anestesia

Los procedimientos de anestesia fueron distintos en cada serie experimental. En la primera serie la cirugía se llevó a cabo bajo anestesia con pentobarbital sódico (33 mg/Kg) por vía intravenosa (vena femoral) y con dosis de mantenimiento cada dos horas (10 mg/Kg). Durante la cirugía se administró solución salina al 0.9% por vía intravenosa a 0.25 ml/minuto y al final de la cirugía se aplicó por la misma vía analgésico (butarfanol 0.2 mg/Kg).

En la segunda serie experimental el gato fue pre anestesiado con hidrocloreuro de ketamina

(0.5 mg/Kg), un relajante muscular (hidrocloruro de xilazina 0.1 mg/Kg) y un analgésico (butarfanol 0.4 mg/Kg), los tres por vía intramuscular. Posteriormente se puso una sonda endotraqueal conectada al sistema ventilación (semiabierto, *bain*), este a su vez se conectó al dosificador de gas anestésico (Ohmeda isotec 3) y a una toma de oxígeno. La cirugía se llevó a cabo bajo anestesia con halotano por vía aérea, 5% concentración de flujo en oxígeno durante la inducción y 2% para mantenimiento. El flujo respiratorio fue de 200 ml/Kg por minuto y se utilizó una bolsa de respiración de 250 ml. Durante la cirugía se administró solución salina al 0.9% por vía intravenosa (vena cefálica) a 0.25 ml/minuto.

En la serie de experimentos agudos los animales se mantuvieron bajo anestesia con una mezcla de hidrocloruro de ketamina (0.4 mg/Kg) e hidrocloruro de xilazina (0.5 mg/Kg) por vía intramuscular, aplicando dosis de mantenimiento (ketamina 0.2 y xilazina 0.1 mg/Kg respectivamente) aproximadamente cada 30 minutos.

En las tres series experimentales se verificaron los estados de oxigenación, respiración, frecuencia y ritmo cardíaco utilizando un oxímetro (Healthdyne Tec) con el sensor colocado en la lengua del animal. La temperatura de los animales se mantuvo al rededor de 37/C con un colchón térmico.

## **Implantación de electrodos**

### *Preparación crónica (Series experimentales 1 y 2)*

En los 14 gatos fueron implantados electrodos de acero inoxidable en forma de clavo en ambas cortezas prefrontales para el registro del EEG y en la cavidad supraorbital para el registro del electrooculograma. El electromiograma se registró con electrodos flexibles de acero

inoxidable insertados en los músculos de la nuca. Además, siguiendo las coordenadas del Atlas de Snider y Niemer (1961), se implantaron electrodos de acero inoxidable bilateralmente en el cuerpo geniculado lateral del tálamo (CGL) (A: 6.5, L: 9.5, H: 13.5 mm), para el registro de las ondas PGO en los 14 animales. En los 8 gatos de la primera serie experimental se implantaron electrodos en ambas amígdalas del lóbulo temporal (A: 11.5, L 9.5, H: 5.0 mm).

En 4 gatos de la de la primera serie experimental y en los 6 gatos de la segunda, el nervio vago izquierdo fue disecado en el cuello al nivel caudal de la laringe, para implantar un electrodo bipolar de acero inoxidable en forma de horquilla desarrollado en nuestro laboratorio. Finalizada la colocación de los electrodos, éstos fueron soldados a un conector DB-25 y se fijaron al cráneo con acrílico dental.

#### *Preparación aguda (Serie experimental 3)*

Para la tercera serie experimental los gatos permanecieron montados en el aparato estereotáxico. Se implantaron electrodos concéntricos de acero inoxidable orientados, hacía el NTS (P: 13.5, L: 2.5, H: 4.0 mm), PBL (P: 4.0, L: 4.5, H: 7.5 mm) y el núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal (AMc) (A: 11.5, L: 10.0, H: 5.5 mm) del hemisferio izquierdo (Snider y Niemer, 1961), y se implantó un electrodo en el nervio vago izquierdo del mismo modo que en los gatos con preparación crónica. En este caso los electrodos permanecieron en las torres estereotáxicas durante todo el experimento.

#### *Cuidados Post operatorios (Series experimentales 1 y 2)*

Después de la cirugía los animales tuvieron un tratamiento con un antipirético (tolfedine

0.1 mg/Kg dos días), un antibiótico (amoxicilina 0.2 mg/Kg tres días) y un analgésico (butarfanol 0.1 mg/Kg tres días). Posteriormente tuvieron 10 días más para la habituación a las condiciones de registro. Durante los experimentos permanecieron en cajas de registro sonoamortiguadas (120×80×80 cm), con temperatura de 22 a 24 /C controlada con un extractor eléctrico de aire. El acceso al agua y alimento fue *ad libitum*; el ciclo de luz (250 lux)-oscuridad (2 lux) fue 12:12 horas (encendido de luz a las 08:00 horas). Se tomó una hora para la limpieza y disposición de alimento de los animales iniciando a las 07:00 horas.

## **PROCEDIMIENTO**

### **Estimulación del Nervio Vago**

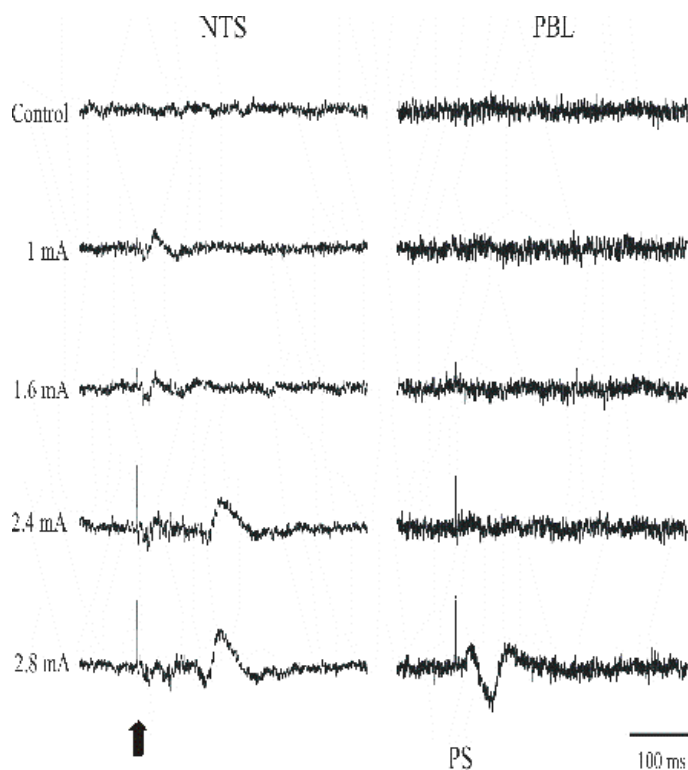
#### *Preparación Crónica (Series experimentales 1 y 2)*

El umbral para la ENV de los gatos de las series experimentales 1 y 2 se obtuvo de la siguiente forma: 20 segundos de estímulo eléctrico (pulsos de 0.5 ms, 30 Hz) con intensidad de 1 mA, seguidos de 5 minutos sin estimulación; incrementando la intensidad 0.2 mA hasta que se observaron respuestas vegetativas (deglución, reflejo de vómito y lengüeteo). La intensidad para la ENV se alcanzó entre 1.2 y 3.0 mA. Con el umbral de estimulación establecido los gatos fueron sometidos a cinco estimulaciones diarias durante 1 minuto a intervalos de 1 hora iniciando a las 10:00 horas, durante cinco días.

#### *Preparación Aguda (Serie experimental 3)*

Para establecer la intensidad de la ENV se aplicaron series de 32 pulsos eléctricos simples (PS) al nervio vago (1 ms, cada 3 segundo), con intervalos de 3 minutos. En cada serie de PS la

intensidad aumentó progresivamente 0.2 mA, hasta obtener la respuesta evocada máxima en el NTS (Fig.1). La intensidad máxima varió entre 2.0 y 3.0 mA. Posteriormente se aplicaron trenes de estimulación a 30 Hz, pulsos de 0.5 ms, durante 1, 3, 5 y 60 segundos, con intervalos de 10 minutos. En este experimento también se llevó a cabo la estimulación eléctrica de NTS (ENTS), para determinar la intensidad de estimulación se procedió como en la ENV, con la diferencia de que se inició con 50 : A y se aumento progresivamente 50 : A, además de observar los potenciales en la PBL principalmente. La intensidad de la ENTS fue de 100 a 300 : A. De igual manera se aplicaron trenes de estimulación a 30 Hz, pulsos de 0.5 ms, durante 1, 3, 5 y 60 segundos.



**Figura 1.** *Búsqueda de la respuesta evocada máxima para la estimulación aguda del nervio vago. Registros del núcleo del tracto solitario (NTS) y de la región parabraquial (PBL). La flecha indica el momento de la aplicación del pulso eléctrico.*

## **Registros**

### *Preparación Crónica (Series experimentales 1 y 2)*

Cada uno de los registros polisomnográficos de las series experimentales 1 y 2 tuvo 23 horas de duración, iniciando a las 08:00 y finalizando a las 07:00 horas del día siguiente. Para lo cual se utilizaron dos polígrafos marca Grass Modelos 78 D (8 canales) y 78 E (10 canales).

### *Serie experimental 1*

Para esta serie experimental se formaron dos grupos. El grupo control (n=4), formado por los gatos que no tuvieron implantado electrodo en el nervio vago, y el grupo experimental, integrado por los animales con implantación de electrodo en el nervio vago (n=4). Los animales del grupo control tuvieron cinco registros continuos. Los gatos del grupo experimental fueron sometidos a cinco registros consecutivos para obtener los valores de Línea Base (LB) y a cinco registros continuos con ENV (cinco estimulaciones diarias de 1 minuto de duración a intervalos de 1 hora iniciando a las 10:00 horas).

### *Serie experimental 2*

En esta serie todos los animales fueron sometidos a 15 registros polisomnográficos; cinco de LB, cinco con ENV (cinco estimulaciones diarias de 1 minuto de duración a intervalos de 1 hora iniciando a las 10:00 horas) y cinco registros post-estimulación (RPS) tomados en los días posteriores inmediatos a la ENV. Para hacer el análisis del espectro de potencia la actividad del EEG de cada uno de los registros fue adquirida en línea durante 6 horas con un sistema convertidor analógico-digital (Astro-Daq), con una frecuencia de muestreo de 100 Hz.

### *Preparación Aguda (Serie experimental 3)*

Se registró la actividad multiunitaria del NTS, PBL y AMc, se obtuvo la actividad control durante cinco minutos y después se aplicaron series de 32 PS al nervio vago con intervalos de 3 minutos, y 30 minutos después de obtener la respuesta evocada máxima se aplicaron los trenes de estimulación de 1, 3, 5 y 60 segundos, con 10 minutos de intervalo entre cada tren. 30 minutos después de la última estimulación vagal se procedió a la ENTS con el mismo procedimiento, aplicación de PS seguida de los trenes, registrando la actividad del nervio vago, PBL y AMc. La actividad EEG de todos los experimentos fue adquirida en cintas de video utilizando un convertidor analógico-digital de 16 canales (Vetter), posteriormente las señales EEG fueron grabadas en el disco duro de una computadora usando una tarjeta de adquisición con resolución de 8 bits con una frecuencia de muestreo de 100 Hz.

### **Análisis de Datos**

#### *Preparación Crónica (Series experimentales 1 y 2)*

Los registros polisomnográficos fueron calificados visualmente usando el criterio de Ursin y Serman (1981). Se obtuvo un hipnograma por cada uno de los registros. Se analizó el número de fases (apariciones) y el tiempo total de cada uno de los estadios del ciclo sueño-vigilia: SOL I, SOL II, sueño MOR y vigilia de las 23 horas. Los hipnogramas y los valores numéricos de cada una de las variables se obtuvieron con un programa computacional (*winsleep*) diseñado en nuestro laboratorio para el análisis de sueño fuera de línea (Fernández-Guardiola et al., 1995; Valdés-Cruz et al., 1997). Además, se cuantificó el número total y la densidad de los potenciales PGO del sueño MOR.



Para el análisis estadístico de la primera serie experimental se utilizó la prueba  $U$  de Mann-Whitney para dos grupos independientes, comparando los valores control con los de la LB y la ENV, para comparar estas últimas se utilizó la prueba  $t$  de Wilcoxon para dos grupos relacionados. En la segunda serie experimental se utilizó la prueba de rangos de Friedman para muestras relacionadas, para comparar las tres condiciones de registro entre sí; en los análisis que presentaron una significancia  $p < 0.05$  se aplicó la prueba  $t$  de Wilcoxon para muestras relacionadas para definir a la condición que presentó la variación significativa.

En la segunda serie experimental se analizó la potencia espectral en las bandas de los husos de sueño (7 a 14 Hz) y las ondas delta (1 a 4 Hz) de los registros de la corteza prefrontal de todos los animales en las tres condiciones. Se utilizó un programa computacional desarrollado en nuestro laboratorio (escrito y probado en una ULTRA SPARC Creator I, utilizando compiladores C++ GNU, Fernández-Mas et al., 1998), que calcula el espectro de potencia de una derivación determinada, en este caso la de corteza prefrontal, en épocas de 4 segundos generando una gráfica que condensa la evolución continua del EEG en el dominio de la frecuencia. Simultáneamente, este programa obtiene los valores numéricos correspondientes a la potencia de las bandas de frecuencia en código ASCII, lo que permite utilizarlos en cualquier hoja de cálculo computacional. Por lo tanto los valores numéricos de la potencia de todos los registros en las 6 horas adquiridas fueron normalizados a 1 y se aplicaron las pruebas de rangos de Friedman y  $t$  Wilcoxon, para comparar las tres condiciones de registro.

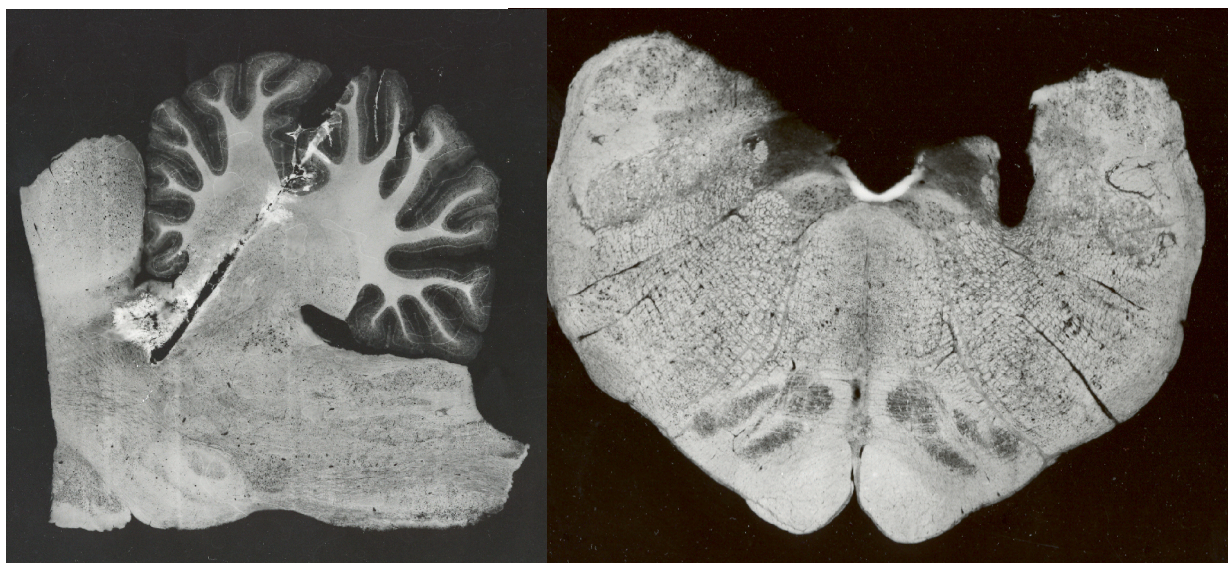
### *Preparación Aguda (Serie experimental 3)*

En la serie experimental 3 se analizaron los cambios en el patrón de disparo neuronal

producidos por la ENV y ENTS sobre las estructuras registradas utilizando histogramas de frecuencia contra tiempo. Además se llevó a cabo el análisis espectral en los dominios de la frecuencia y la amplitud utilizando un programa computacional desarrollado en nuestro laboratorio, señalado anteriormente (Fernández-Mas et al., 1998).

### Verificación de Posición de Electrodo

Al final de la manipulación experimental todos los animales de las tres series experimentales se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico y fueron perfundidos por vía cardíaca con solución fisiológica y formaldehído al 10 %. El cerebro fue removido y colocado en formaldehído al menos 8 días. Posteriormente se llevaron a cabo cortes histológicos coronales seriados, de 40 a 60 : m., para la verificación del sitio de registro de los electrodos utilizando la técnica del procedimiento rápido (Guzmán-Flores, et al., 1958) (Fig. 2).



**Figura 2.** Ejemplos del procedimiento rápido de verificación de electrodos. La fotografía de la derecha corresponde a la trayectoria de un electrodo dirigido hacia la región parabraquial y la del lado izquierdo corresponde a la de un electrodo dirigido hacia el núcleo del tracto solitario.

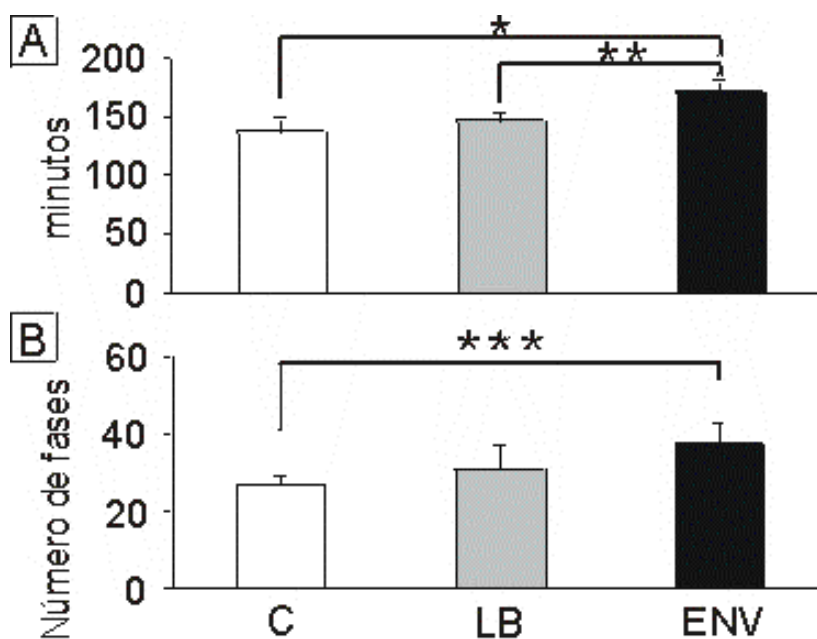
## RESULTADOS

### Gatos con preparación crónica

#### Efecto sobre los estadios de sueño

##### *Serie experimental 1*

La única fase que presentó cambios significativos fue el sueño MOR, el tiempo total y el número de fases en los gatos con ENV aumentó comparado con el control (*U* Mann-Whitney,  $p < 0.01$ ) y la línea base (*t* de Wilcoxon,  $p < 0.05$ ) (Fig. 3 A y B).

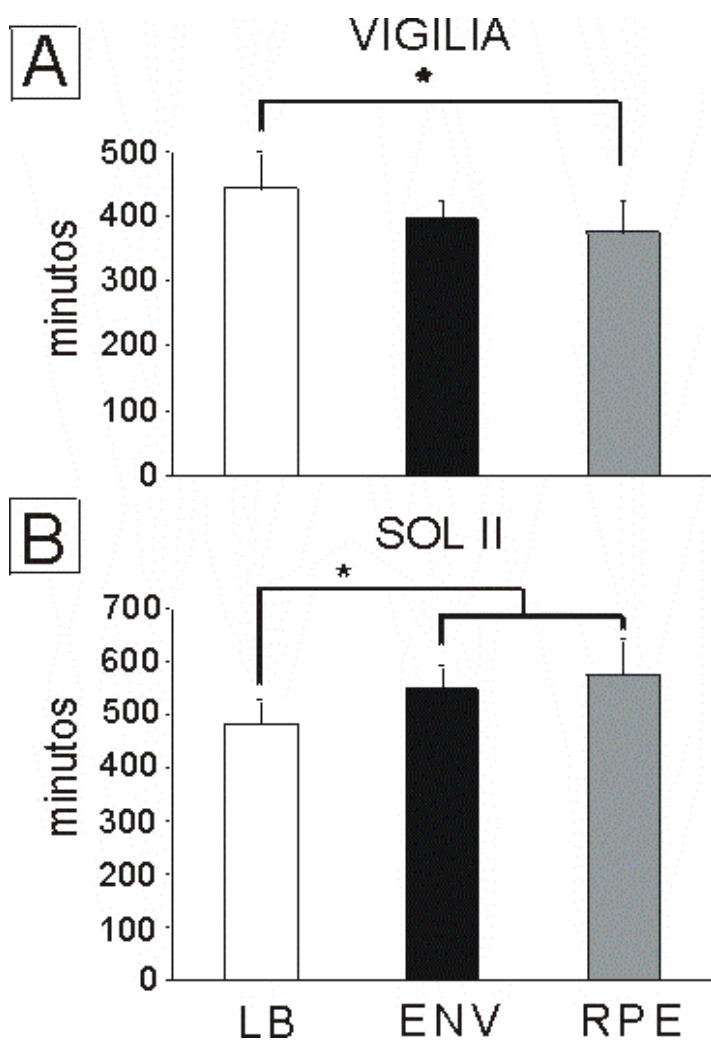


**Figura 3.** Promedio del tiempo total en minutos (A) y del número de fases (B) del sueño MOR en 23 horas de todos los gatos. Nótese el aumento significativo en ambas gráficas con la ENV (\*, \*\*\*  $p < 0.05$  C vs ENV prueba U de Mann Whitney; \*\* $p < 0.05$  LB vs ENV prueba t de Wilcoxon. C (Control), LB (Línea Base), ENV (Estimulación del Nervio Vago).

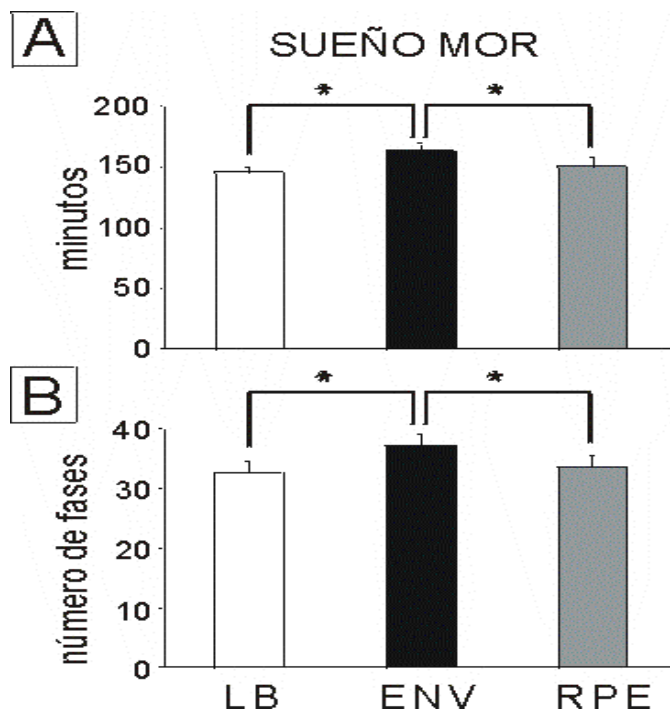
##### *Serie experimental 2*

En este caso, comparando las tres condiciones de esta serie experimental con la prueba de rangos de Friedman se observó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el tiempo total de vigilia y

de SOL II. La vigilia fue menor de manera significativa ( $t$  de Wilcoxon,  $p < 0.03$ ) en los RPE comparados con la LB (Fig. 4 A), mientras que el SOL II aumentó significativamente ( $t$  de Wilcoxon,  $p < 0.03$ ) en los registros con ENV y en los RPE comparados con la LB (Fig. 4 B). En el tiempo total y en el número de fases del sueño MOR se observó una diferencia significativa entre grupos (prueba de Friedman,  $p < 0.05$ ), siendo significativamente mayores ( $t$  de Wilcoxon,  $p < 0.03$ ) en ambos casos los valores de la ENV (Fig. 5 A y B).



**Figura 4.** Promedio del tiempo total en minutos de vigilia (A) y de Sueño de Ondas Lentas II (SOL II) (B) en 23 horas de registro de todos los gatos en las tres condiciones experimentales línea base (LB), estimulación del nervio vago (ENV) y registros post estimulación (RPE). Nótese la disminución significativa en RPE comparada con la LB en la vigilia y el aumento de SOL II con ENV y RPE comparados con la LB ( $*p < 0.03$ , prueba "t" de Wilcoxon).



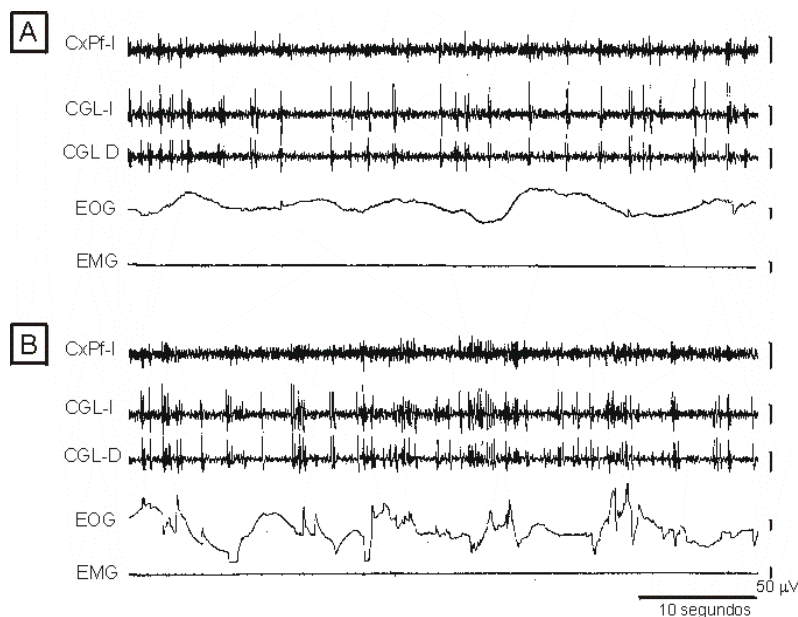
**Figura 5.** Promedio del tiempo total en minutos (A) y el número de fases (B) de sueño MOR en 23 horas de registro. Nótese el incremento significativo en ENV comparado con LB y RPE en ambas gráficas. Abreviaciones como en la figura anterior (\*  $p < 0.03$ ,  $t$  de Wilcoxon).

### Efecto sobre los potenciales PGO

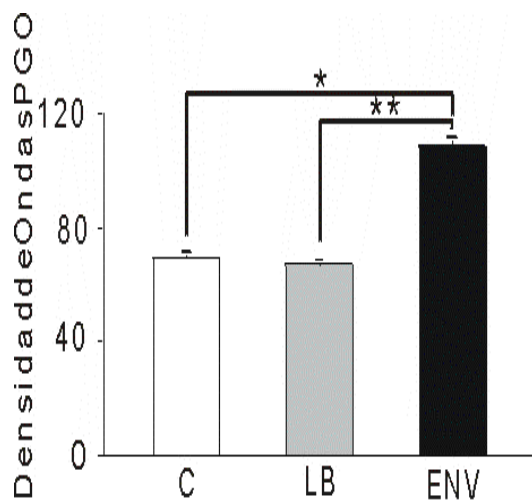
#### *Series experimentales 1 y 2*

En la primera serie experimental, los gatos con ENV presentaron un aumento en la cantidad de potenciales PGO del sueño MOR (Fig. 6). La densidad de estas ondas tuvo un aumento significativo con la ENV con respecto al control ( $U$  Mann-Whitney,  $p < 0.01$ ) y la LB ( $t$  de Wilcoxon,  $p < 0.05$ ) (Fig. 7). Este aumento se presentó desde el primer día de ENV (Fig. 8).

En la segunda serie experimental se observó el mismo fenómeno en la densidad de los potenciales PGO durante los cinco días de la ENV (prueba de Friedman,  $p < 0.05$ ;  $t$  de Wilcoxon,  $p < 0.03$ ); sin embargo a partir del primer día de RPE la densidad de ondas PGO vuelve a los valores basales (Fig. 9 A y B).

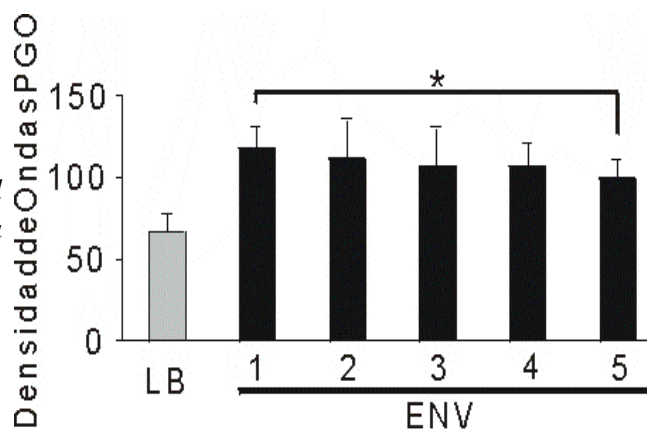


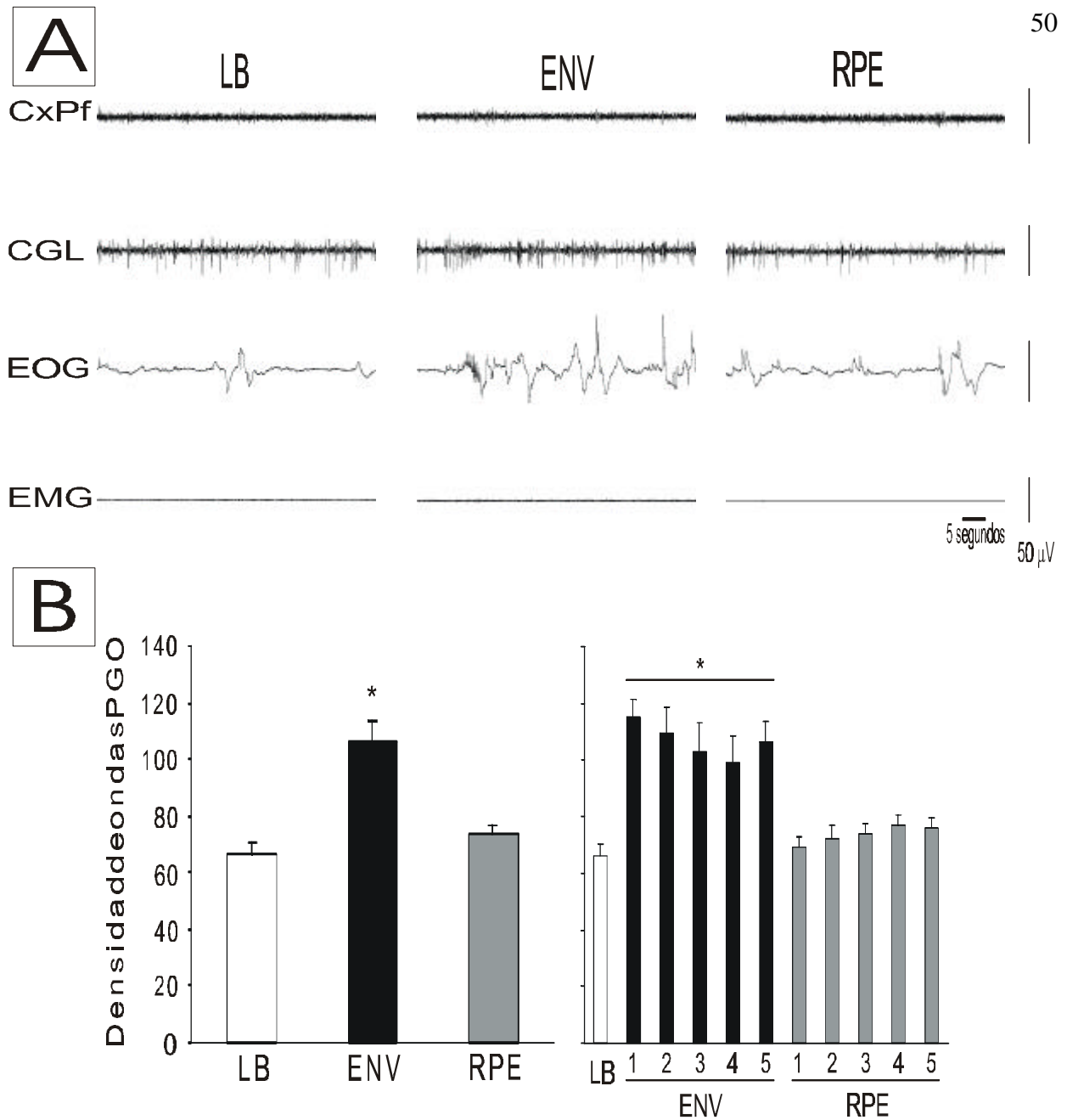
**Figura 6.** Registro de sueño MOR en el mismo gato en A) Línea Base y B) Estimulación de Nervio Vago. Nótese el mayor número de ondas PGO en el registro con estimulación vagal. CxPf- I (Corteza Prefrontal izquierda), CGL-I (Cuerpo Geniculado Lateral izquierdo), CGL-D (Cuerpo Geniculado lateral Derecho), EOG (Electrooculograma), EMG (Electromiograma).



**Figura 7.** Densidad de ondas PGO (número de ondas por minuto), en control (C), línea base (LB) y con estimulación del nervio vago (ENV). Nótese el aumento en los animales ENV (\* $p < 0.05$  U de Mann Whitney; \*\* $p < 0.05$  t de Wilcoxon).

**Figura 8.** Densidad de ondas PGO, contabilizada por cada día de ENV. Nótese el aumento en la densidad desde el primer día de estimulación (\* $p < 0.05$  t de Wilcoxon). Abreviaturas como en la figura anterior.





**Figura 9.** A) Registro de sueño MOR en el mismo gato en LB, ENV y RPE. Nótese el mayor número de ondas PGO en el registro con ENV. Abreviaciones como en la figura anterior. B) Densidad de ondas PGO en las tres condiciones. La gráfica de la izquierda representa el promedio del total de registros de cada condición. La gráfica de la derecha representa el promedio de la densidad por cada día de ENV y en cada día de RPE. Nótese el aumento de la densidad de las ondas PGO sólo durante los días de estimulación, y desde el primer día de RPE los valores vuelven a los niveles de la LB. Abreviaciones como en la figura 4 (\*  $p < 0.03$ ,  $t$  de Wilcoxon).

## **Transición súbita de vigilia a sueño MOR (Reflejo narcoléptico)**

### *Series experimentales 1 y 2*

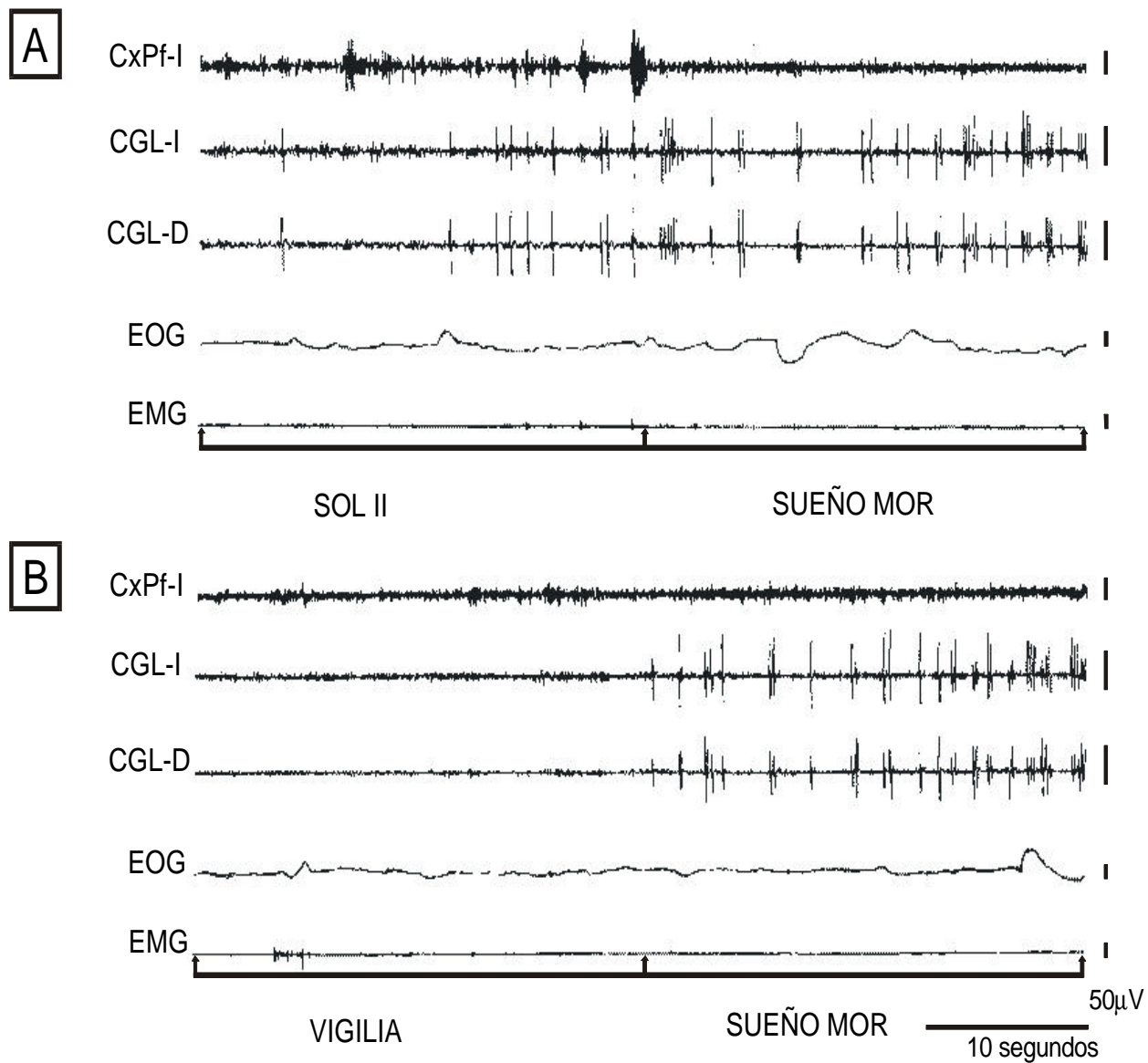
Durante la calificación de los trazos obtenidos se observaron entradas súbitas de vigilia a sueño MOR en los gatos con ENV de ambas series experimentales (Fig. 10 A y B), apareciendo al rededor de seis horas después de la última estimulación vagal, sin tener, en ninguna de las series, otro patrón en particular. Reiterando, que estas transiciones se observaron en todos los animales con ENV, pero no ocurrió en todos los días (Tabla 2).

## **Análisis Espectral**

### *Serie experimental 2*

En los trazos del EEG los husos del SOL II fueron de mayor amplitud en los trazos con la ENV y en los RPE comparados con la LB. En la comparación del espectro de potencia del EEG de la corteza prefrontal izquierda de los animales en las seis horas de adquisición en cada una de las condiciones de registro, se observó un aumento significativo de la potencia absoluta en las bandas de 1-4.0 Hz, que corresponde a la actividad delta y de 8-14 Hz de los husos del sueño (Fig. 5.5.7 A y B) con la ENV y en los RPE comparadas con la LB (prueba de Friedman,  $p < 0.05$ ;  $t$  de Wilcoxon,  $p < 0.03$ ).





**Figura 10.** Registro polisomnográfico de un gato. A) Transición de SOL II a sueño MOR. B) Reflejo narcoléptico: transición súbita de vigilia a sueño MOR en el mismo gato ocho horas después de la última estimulación vagal. Corteza prefrontal izquierda (CxPf-I), cuerpo geniculado lateral Izquierdo y derecho (CGL-I, CGL-D), electrooculograma (EOG) y electromiograma (EMG).

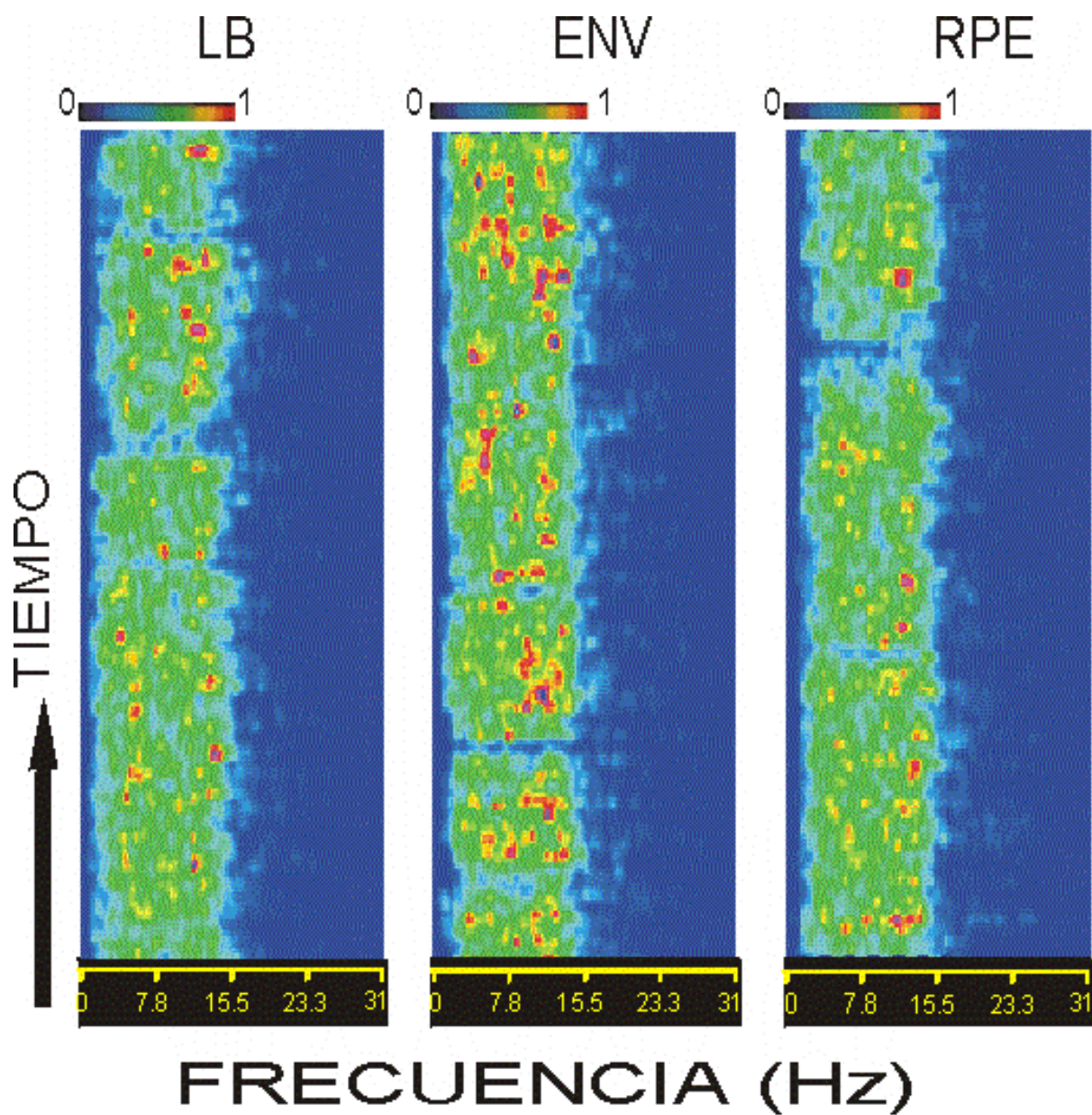
TABLA 2

Número de transiciones súbitas de vigilia a sueño MOR (Reflejo narcoléptico)					
DÍAS DE ENV					
<i>Primera Serie Experimental</i>					
<i>GATO</i>	<i>Día 1</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 4</i>	<i>Día 5</i>
<i>Gato 1</i>	0	0	2	2	2
<i>Gato 2</i>	0	1	2	2	1
<i>Gato 3</i>	0	0	0	2	1
<i>Gato 4</i>	0	1	1	2	3
<i>Segunda Serie Experimental</i>					
<i>Gato 1</i>	0	0	2	2	2
<i>Gato 2</i>	0	1	0	2	1
<i>Gato 3</i>	0	0	0	2	1
<i>Gato 4</i>	0	1	1	2	2
<i>Gato 5</i>	0	1	0	1	0
<i>Gato 6</i>	1	0	0	0	1

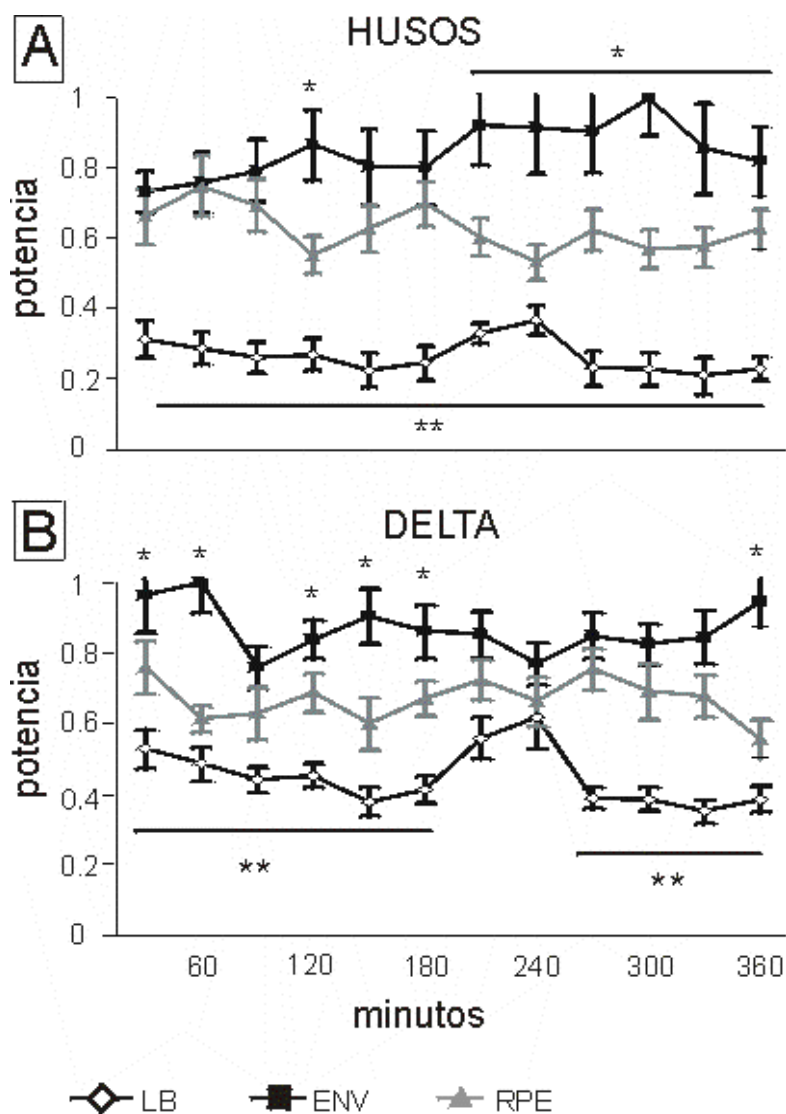
### Efecto Sobre la Conducta

#### *Series experimentales 1 y 2*

En todos los animales la ENV induce los siguientes cambios conductuales: miosis ipsilateral, parpadeo, movimientos oculares rápidos en salvas, lengüeteo, contracciones abdominales, fijar la mirada hacia arriba, inmovilizaciones breves y súbitas, deglución, y eventualmente bostezo, maullido y comer compulsivamente. Todas las conductas se desplegaron durante la estimulación. Sin embargo, estas manifestaciones fueron disminuyendo conforme transcurrieron los periodos de la ENV.



**Figura 11.** Espectros de potencia de la corteza prefrontal, de 30 minutos de duración, frecuencia de 0 a 31 Hz. Todas las gráficas son del mismo gato en BL, VNS y PSR; la flecha indica la cuantificación del tiempo de abajo hacia arriba. Nótese el incremento de la potencia durante el SOL, en la banda correspondiente a delta (1-4 Hz) y de los husos del sueño (8-14 Hz). La escala está normalizada a uno, va de colores fríos a cálidos.

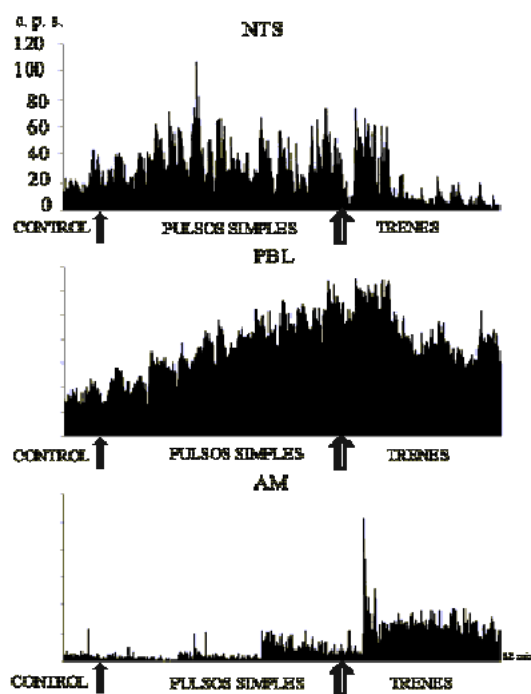


**Figura 12.** Promedio de la potencia normalizada a uno en la banda de los husos de sueño (A) en cada una de las condiciones experimentales en 360 minutos de registro. Nótese que la potencia aumenta significativamente con la ENV comparada con las otras dos condiciones; aunque durante la RPE la potencia disminuye sigue siendo mayor de manera significativa en relación con la LB. En la banda de las ondas delta (B) se tiene una tendencia similar que los husos pero de menor magnitud. \*\* $p < 0.03$  LB vs ENV y RPE \* $p < 0.03$  ENV vs RPE, prueba t de Wilcoxon.

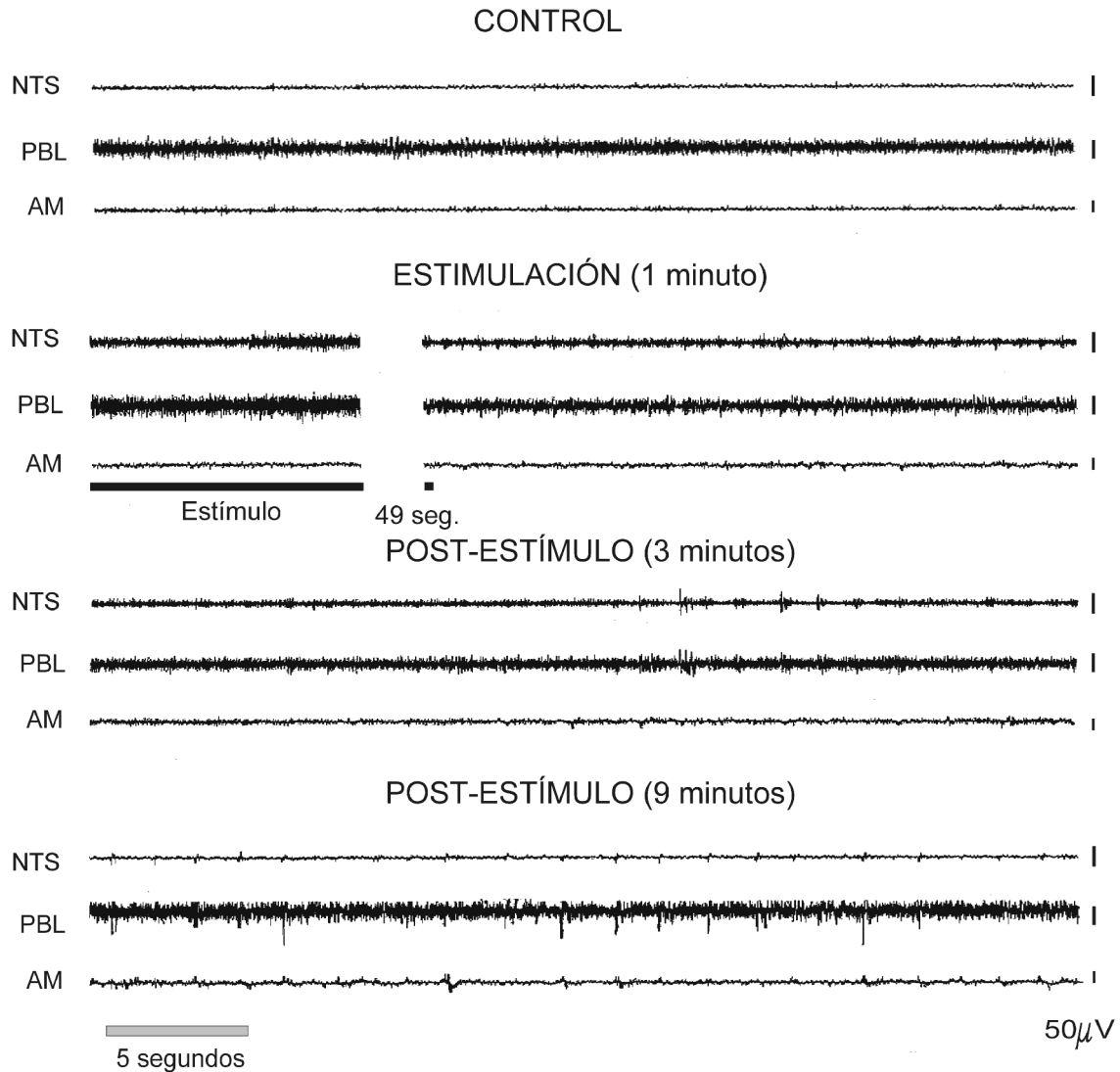
### Tercera serie experimental (preparación aguda)

#### *Efectos de la ENV*

La respuesta en la actividad multiunitaria del NTS, PBL y AMc, aumenta progresivamente a partir de la ENV con pulsos simples, efecto que es revertido cuando se aplican trenes de estimulación de 1, 3, 5 y 60 s, excepto en el NTS, que disminuye su patrón de disparo (Fig. 13). Además, la ENV tras la aplicación de trenes de 60 s produce una respuesta de larga duración en la actividad neuronal del NTS, PBL y AMc (Fig. 14), que es persistente hasta los nueve minutos después del estímulo.



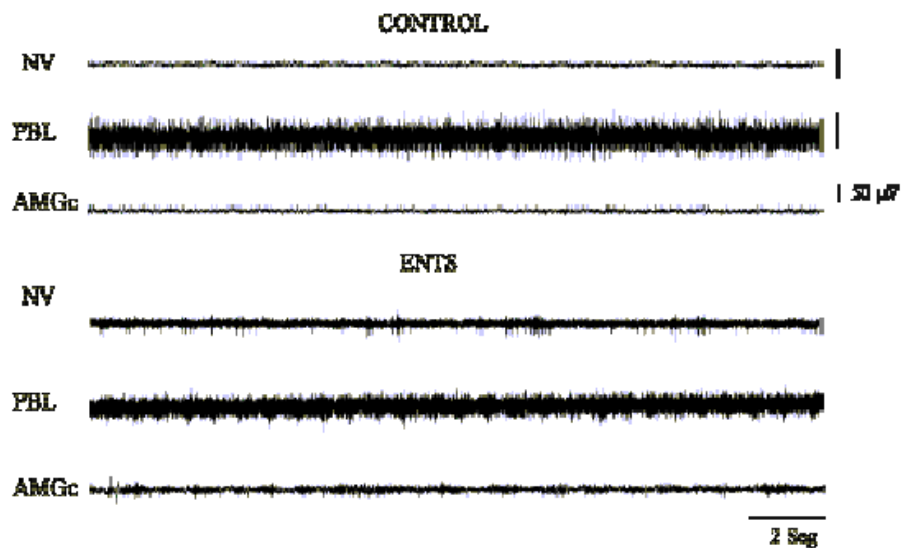
**Figura 13.** Frecuencia de disparo neuronal del NTS, PBL y AM, con la aplicación de pulsos simples y trenes de estimulación al nervio vago. Las flechas muestran el inicio de la estimulación con pulsos simples y de los trenes de estimulación. Nótese el aumento de la actividad neuronal con PS y la disminución progresiva en el NTS y la PBL al iniciar los trenes.



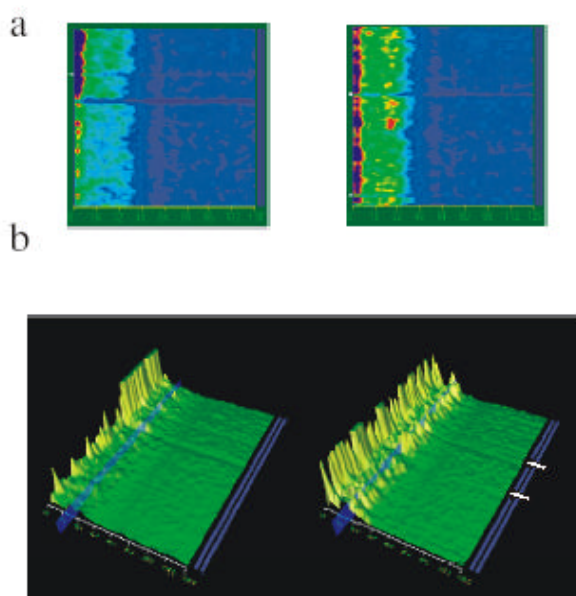
**Figura 14.** Efecto de la ENV sobre la actividad del NTS, PBL y AMc en situación control y en 1, 3 y 9 minutos posteriores a la estimulación. Nótese la persistencia de los potenciales en PBL principalmente.

#### *Efectos de la ENTS*

La ENTS, produjo un efecto similar al de la ENV, tras aplicar pulsos y trenes de estimulación (Fig. 15). Sin embargo, difiere en la aparición de actividad rítmica de 3 Hz en los registros del PBL y AMc, que se mantuvo de esta manera por varios minutos después de la estimulación (Fig. 16).



**Figura 15.** Registro de la actividad multiunitaria del NV, PBL y AMc en condición control (panel superior) y 30 s después de la aplicación de un tren de estimulación de 60s en el NTS (panel inferior). Obsérvese la actividad rítmica a 3 Hz.



**Figura 16.** Evolución en el dominio de la frecuencia espectral en la AMc en control (izquierda) y con trenes de ENTS (derecha). a) Espectro de potencia de 0-128 Hz. b) Representación tridimensional de los mismos datos que en a). Las flechas indican la estimulación. Tiempo de análisis 15 minutos.

## DISCUSIÓN

### Efecto Sobre los estadios del sueño

Un aspecto a considerar es que en la primera serie experimental sólo se observó aumento en el sueño MOR. Sin embargo, hubo una tendencia de aumento en el SOL II y una ligera disminución de la vigilia. En la segunda serie experimental, los cambios en el SOL II y en la vigilia sí fueron significativos, además de confirmarse lo hallado en el sueño MOR. Por lo tanto se discutirán de manera conjunta los cambios en los estadios del sueño.

La estimulación vagal afectó de manera significativa a los estadios del ciclo sueño-vigilia. Los cambios en el sueño MOR sucedieron únicamente durante los días de estimulación y los cambios en el SOL II se mantuvieron durante los días posteriores a la ENV. Por su parte, la disminución de la vigilia durante de RPE está en función del aumento del SOL II.

El efecto de la ENV sobre el sueño, podría ser debido a las proyecciones centrales aferentes del nervio vago. Éstas, se originan en el ganglio nodoso y la mayor parte de las fibras se dirigen hacia el NTS (Crill y Reils, 1968; Miaura y Reis, 1972; Rhoton et al., 1966). En gatos, se ha observado que diferentes grupos de neuronas de este núcleo presentan cambios en su patrón de disparo de dependiendo del estadio de sueño en que se encuentre el animal (Eguchi y Satoh, 1980).

Se ha reportado la importancia del NTS sobre el SOL (Reinoso-Barbero y De Andrés, 1995). Además, con la estimulación eléctrica a baja frecuencia del NTS aparece actividad lenta en el EEG (Magnes et al., 1961). Y por el contrario, se produce una activación con la destrucción de este núcleo (Bonvallent y Allen, 1963). Sumado a lo anterior, la tasa de disparo de las neuronas del NTS es mayor durante el SOL en comparación con la vigilia (Eguchi y Satoh, 1980). La



estimulación eléctrica del complejo vagal en preparaciones semicrónicas, provoca la aparición de signos del SOL, como dilatación pupilar y EEG con ondas lentas aun después de la lesión del NDR, que también juega un papel importante durante el sueño lento (Sakai y Crochet, 2000). En animales íntegros, la ENV ejercería un efecto sobre el NDR a través del NTS (Hebert y Saper, 1992), influyendo en los mecanismos serotoninérgicos que modulan la activación de redes tálamo-corticales para los estados de alertamiento. La serotonina inhibe las neuronas talamocorticales (Sakai y Crochet, 2000 ) y excita a las neuronas gabaérgicas del núcleo reticular del tálamo (McCormick y Wang, 1991), del mismo modo que a las neuronas locales gabaérgicas en el tálamo y en la corteza cerebral (Monckton y McCormick, 2002; Sheldon y Aghajanian, 1990), ejerciendo el papel de neurotransmisor promotor del sueño por inhibir directamente a las neuronas talamocorticales y excitar a las interneuronas gabaérgicas de la corteza y el tálamo dando lugar a la reducción de la actividad neuronal, es decir a la aparición de ondas lentas en el EEG (Sakai y Crochet, 2001a).

También, el NTS tiene proyecciones colinérgicas y de aminoácidos excitadores hacia estructuras que están involucradas con la aparición del sueño MOR (Danguir et al., 1988; Laguzzi et al., 1984; Nosjeau et al., 1987; Puizillout, 1984; Shihara et al., 1999), como la PBL (Granatta y Kitai, 1989), la amígdala del lóbulo temporal (Duan et al, 1994; Halsell, 1998; Takeuchi et al., 1983), el LC y el núcleo subcoeruleus (Sakai et al., 1977). Además, el NTS presenta un aumento de C-fos en animales que tuvieron un aumento en el sueño MOR provocado por estimulación auditiva (Merchant-Nancy et al, 1992).

La importancia de la PBL y el LC durante los eventos tónicos y fásicos del sueño MOR está bien documentada (Jouvet, 1972b; Sakai, 1985). En la PBL y la AMc, se ha logrado una

inducción duradera de sueño MOR utilizando estimulación colinérgica directa (Calvo et al., 1992, 1996), destacándose, en ambos casos, el aumento durante varios días de los potenciales PGO. El aumento en la densidad de estos potenciales en nuestros experimentos se debería a que la ENV propicia una activación en estas áreas a través del NTS, que no va más allá de los días de estimulación ya que a partir del primer RPE los potenciales PGO vuelven a los valores basales.

Las transiciones súbitas de vigilia a sueño MOR (reflejo narcoléptico), fueron descritas con anterioridad en gatos con ENV en preparación *encéphale isolé*, y privados de sueño (Puizillout y Foutz, 1977). En nuestro trabajo, los animales presentan el reflejo narcoléptico a pesar de tener el sueño MOR incrementado lo que descarta que ocurra por la presión de éste. Se ha estudiado el efecto de la ENV en perros con narcolepsia genética, observándose sólo un efecto sobre la cataplexia (Fujiki, et al., 2003). Si bien, el reflejo narcoléptico no apareció más de 3 veces en un registro de 23 horas (ver tablas 5.5.1), se presentó únicamente con la ENV sin un patrón definido para su ocurrencia, además que los gatos no presentan ningún otro signo indicativo de la narcolepsia. Fibras aferentes del NTS presentan una alta densidad de neuronas inmunorreactivas a las orexinas (Peyron et al., 1998; Zhang et al., 2004), que juegan un papel importante en la narcolepsia (Siegel, 1999; Thallickal et al., 2000), y en este caso estarían involucradas en la aparición del reflejo narcoléptico a través de las interconexiones entre el hipotálamo y el NTS (Cechetto, 1987).

### **Efecto sobre el EEG**

El espectro de potencia durante el SOL II con la ENV presentó un aumento significativo

en las frecuencias de delta y de los husos del sueño que persistió en los días posteriores a la estimulación. En animales como el gato, que no tienen un componente circadiano muy fuerte, hay menores variaciones en la potencia del EEG durante las 24 horas, debido a la ausencia de periodos largos de vigilia (Lancel, 1991), ya que sólo presenta mayor potencia de la actividad delta en los primeros episodios de SOL y ésta disminuye progresivamente durante los siguientes (Lancel, 1992). Sin embargo, usando distintos periodos de privación de sueño, se induce un aumento en todos los rangos de frecuencia que componen el SOL (Tobler, 1995; Tobler et al., 1990), señalando que este aumento en la potencia es un reflejo de la presión del sueño por mantener la vigilia durante más tiempo del habitual (Dijk et al., 1990). En nuestros resultados el aumento en la potencia de los husos del sueño y de la actividad delta no estaría relacionado con la duración de la vigilia, sino a la influencia que la ENV ejercería sobre las redes talamo-corticales que genera las oscilaciones lentas durante el sueño a través de proyecciones de primer y segundo orden (Rutecki, 1990). La persistencia de este aumento, sobre todo en los husos de sueño en los ENV, estaría reflejando un mayor efecto sobre las neuronas del núcleo reticular del tálamo que son esenciales para su generación (Steriade y Timofeev, 2003).

En trabajos donde se ha estudiado el efecto de ENV sobre el sueño de pacientes con epilepsia refractaria, se ha descrito un aumento en la potencia de la banda delta (Rizzo et al. 2004), y un incremento del estado de alerta diurno (Rizzo et al., 2003; Malow et al., 2001), que está relacionado con la calidad del sueño nocturno y no al aumento global de la vigilia. En el caso de los gatos con la ENV se presenta el mismo fenómeno, es decir que el aumento del sueño lento y la potencia espectral de la actividad EEG intrínseca, junto con la disminución de la vigilia y el aumento significativo del sueño MOR reflejarían un cambio en la calidad del sueño que se

mantiene aún después la ENV.

### **Efecto sobre la Conducta**

Los efectos sobre la conducta fueron observados en las series experimentales 1 y 2; y estos se circunscriben solamente durante la aplicación de la estimulación vagal. Las contracciones abdominales y el comer compulsivo, podrían ser inducidas por las proyecciones eferentes parasimpáticas del nervio vago hacia el esófago, estómago e intestino (Brodal, 1981; Foley y DuBois, 1937; Woodbury y Woodbury, 1990). La deglución, el lengüeteo y el maullido son conductas que se presentarían por la activación del núcleo ambiguo que controla los músculos de la fonación y la deglución (Carpenter y Pines, 1957), y el reflejo de vómito se debería a la activación del área postrema a través del NTS (Vigier y Portailier, 1979).

La miosis ipsilateral, el parpadeo, los movimientos oculares en salvas y fijar la mirada hacia arriba, serían efecto de la activación del núcleo motor ocular común y del núcleo de Edinger-Wesphal (que forma parte del anterior), a través de las aferentes centrales del NTS (Anden, 1966).

Sin embargo, es notorio que la conducta de los animales durante la estimulación va declinando conforme avanzan los periodos de ENV, siendo similar a lo que sucede en la clínica en pacientes con epilepsia refractaria, ya que durante el periodo de estimulación presentan tos, parestesias e incluso dolor, los cuales también desaparecen con el tiempo (Schachter, 2002; Ben-Menachem, 2001; Morris et al., 1999). Una relación precisa entre la evocación de la conducta inducida por la ENV con la eficacia de la misma no está bien determinada en la clínica (Heck et al., 2002). Por lo que en nuestro trabajo decidimos usar los parámetros que provocan

un despliegue de conductas muy evidentes de inicio, ya que se presenta un fenómeno similar a la habituación, cumpliendo los criterios señalados por Thompson y Spencer (1966): disminuye la respuesta con la estimulación repetitiva, aumenta la habituación cuando se incrementa las ocasiones que se aplica la ENV y a veces se recuperan las respuestas entre las estimulaciones.

### **Efecto de la ENV y la ENTS en experimentos agudos**

Los efectos producidos por la ENV y ENTS sobre la actividad multiunitaria y el espectro de potencia de las zonas registrada están en el mismo sentido de lo que ocurriría en los experimentos crónicos, es decir, se explica por las aferentes vagales hacia éstos núcleos (Shihara et al., 1999; Granata y Kitai, 1989; Duan et al., 1994; Takeuchi et al., 1983; Halsell, 1998). Así, los resultados obtenidos en los experimentos agudos, sugieren que los efectos de la ENV sobre la actividad cortical, se debería a la acción excitadora del NTS sobre el PBL, que a su vez envía proyecciones colinérgicas hacia el sistema tálamo-cortical, responsable de la generación de la actividad delta y los husos de sueño, debido a que éste circuito depende de sistemas neuromoduladores del tallo cerebral como la región parabraquial, locus coeruleus, locus subcoeruleus y la región dorsolateral del tegmento pontino (Steriade, 1997; Steriade y McCarley, 1990). En gatos, el disparo de neuronas colinérgicas mesopontinas con proyecciones talámicas disminuyen progresivamente su actividad en las transiciones de vigilia a SOL (Steriade, 1997), esta disminución provoca una defacilitación de las neuronas tálamo-corticales y neocorticales, expresada por la hiperpolarización en las neuronas neocorticales (Steriade, 1997; Steriade et al., 1990; 1993a; 1993b; 2001). Además del sistema colinérgico, otros sistemas de neurotransmisión han sido implicados en la modulación de la actividad cortical, que también pueden ser afectados

por la ENV.

De este modo se puede concluir que el efecto de la ENV se manifiesta en tres etapas. La inicial durante las primeras ENV donde se ven los efectos sobre la conducta y conforme transcurren las estimulaciones se presenta la habituación. La segunda etapa, que se manifiesta en los días de ENV aumentando el número de fases y la duración del sueño MOR y la densidad de las ondas PGO de mismo. Y una tercera etapa que inicia con la ENV y se mantiene hasta los RPE que se evidencia con el aumento del tiempo total de SOL II y el incremento en la potencia del EEG de las bandas de los husos de sueño y la actividad delta. Los efectos que son duraderos, es decir, los que van más allá del momento de la ENV, y podrían ser el reflejo de cambios plásticos provocados por la estimulación vagal.

## CONSIDERACIÓN FINAL

Más que agregar elementos a la discusión se considera necesario dar un panorama del sentido de los experimentos. La primera serie experimental surge de un trabajo en el que observamos el efecto de la ENV sobre la epileptogénesis inducida por el modelo experimental *Kindling* en gatos (Fernández-Guardiola et al., 1998, 1999). En éste, además de hacer el análisis de la epilepsia, observamos los efectos que sobre el sueño podría tener la ENV, ya que seguimos la hipótesis de que los mecanismos, en particular, del sueño MOR estarían involucrados en el retardo de las crisis epilépticas. Propuesta hecha inicialmente por Fernández-Guardiola y Ayala (1971), cuando notaron que al finalizar las crisis aparecen signos similares a los del sueño MOR. Así surgió la pregunta general ¿La ENV de por sí provoca cambios en el sueño en animales crónicamente implantados? A lo que dijimos sí como hipótesis, es más, propusimos que aumentaría el sueño MOR y las ondas PGO. Sin embargo faltaba hacer los experimentos. También planteamos, antes de finalizar los experimentos, que podría haber un efecto en el ritmo circadiano del sueño en los gatos, de ahí el título de la tesis, sin embargo no hubo tal en ninguno de los estadios.

La primera serie experimental confirmó de alguna manera nuestra hipótesis. Sin embargo, al analizar los datos observamos cambios en el EEG en especial en la actividad lenta; y en registros de prueba notamos que el efecto de la ENV sobre el MOR se extinguía cuando dejábamos de aplicarla, por lo que los efectos duraderos de la ENV no se podían abordar utilizando sólo al sueño MOR como referente. Así que en la segunda serie experimental planteamos dos propósitos: analizar la actividad EEG con espectros de potencia y continuar registrando en días posteriores a la finalización de la ENV para buscar algún efecto que se

mantuviera o se presentara en los días posteriores a la estimulación. Además, continuamos observando la conducta de los animales en el momento y minutos después de la ENV.

De manera paralela, los experimentos agudos nos orientaron en varios sentidos. Encontramos que la intensidad de estimulación para encontrar la respuesta máxima en el NTS con la ENV, es similar a la que definimos para los gatos en preparación crónica. Además de que el efecto de la ENV sobre la actividad de los núcleos registrados se mantiene por varios minutos, lo que nos indicó que el efecto de la ENV no se puede plantear de manera lineal, como, por ejemplo, en los potenciales evocados: un estímulo-una respuesta.

Con estas series experimentales cerramos una parte de este tópico, asumiendo que nuestros resultados son básicamente de carácter fenomenológico, pero que hacía falta una tabla rasa para poder hacer abordajes más elaborados.

Para continuar con el estudio de los estadios de ciclo sueño-vigilia en el gato y ENV, se han comenzado experimentos con un abordaje farmacológico, aplicando tópicamente en el NTS distintas sustancias que puedan potenciar, revertir o inhibir el efecto de la ENV sobre los estadios del sueño o sobre los componentes del EEG de los mismos. Además se iniciarán experimentos en preparaciones semicrónicas para analizar, en un principio, la actividad unitaria del NTS durante los estadios del sueño y los posibles cambios con la ENV y con la aplicación de fármacos de manera tópica.



# APÉNDICE

## MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL SUEÑO

Con el surgimiento del EEG se desarrolló el estudio de los mecanismos fisiológicos del ciclo sueño-vigilia. Bremer (1938), para el estudio de la actividad EEG en gatos, creó novedosas técnicas: la preparación *encéphale isolé* y la preparación *cerveau isolé*.

En la preparación *encéphale isolé*, al animal se le separa la médula espinal, dejando intacto al resto del encéfalo para ser registrado. Con esta preparación, Bremer describió estados alternantes de vigilia y somnolencia o sueño, con una tendencia hacia la activación del EEG; y observó que el cerebro podía activarse con estímulos sensoriales. Con la preparación *cerveau isolé*, donde el gato es seccionado por delante de la lámina cuadrigémina, describió que los animales presentaban un estado de coma irreversible, con actividad EEG lenta y el gato no responde a estímulos sensoriales.

Posteriormente Moruzzi y Magoun (1949), descubrieron que al lesionar a la formación reticular mesencefálica, el gato permanece en un estado de coma y si se estimula eléctricamente la misma, el animal si está dormido despierta, o si está despierto tiene conducta de orientación. Así, postularon que la vigilia estaría condicionada por la influencia continua de la formación reticular, activada por influjos de tipo sensorial, al cual denominaron sistema reticular activador ascendente.

Estos trabajos fueron el pilar de la teoría pasiva del sueño partiendo de la hipótesis de la desaferentación, que propone que el sueño sobreviene en forma pasiva por la falta de estimulación sensorial del sistema de la vigilia, es decir, por la falta de la influencia activadora del sistema reticular activador ascendente.

Sin embargo, Hess en 1944, logró producir sueño con la estimulación eléctrica del tálamo e hipotálamo posterior. Sentando las bases de la teoría activa del sueño, que lo considera como un

estado fisiológico particular, inducido activamente y controlado por estructuras específicas.

Además, el núcleo supraquiasmático del hipotálamo juega un papel fundamental en la ritmicidad del ciclo sueño-vigilia, su lesión provoca la desorganización circádica de los periodos de sueño (Ibuka y Kawamura, 1975; Rusak y Suker, 1979).

Es de destacar el desarrollo del estudio de los factores inductores de sueño. Este concepto, fue propuesto inicialmente por Pieron en 1913, quien suponía que durante la vigilia se acumula una substancia que induce sueño a la cual llamó hipnotoxina. Los trabajos de Pieron fueron muy discutidos. No obstante, se ha demostrado la existencia de péptidos "facilitadores de sueño". Algunas de estas sustancias pueden ser obtenidas posterior a la privación de sueño, en sangre, orina y tejido cerebral. Se han descrito varios factores hipnógenos: el Factor "S", de origen peptídico que se acumula en la sangre; el péptido inductor de sueño delta que se encuentra en el líquido cefalorraquídeo; el péptido intestinal vasoactivo (VIP) que tiene una amplia distribución en el cerebro incluyendo al rafe y el hipotálamo, entre otras sustancias promotoras de sueño.

Si bien el estudio de los mecanismos fisiológicos del sueño ha dado origen a un gran número de trabajos, en este caso se hará énfasis en aquellos que se relacionan de manera más directa con el presente trabajo, destacando el papel que juegan algunos núcleos y neurotransmisiones tanto en el sueño lento como en el sueño MOR.

## **MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL SOL**

Como ya se señaló con anterioridad las dos características principales del EEG durante el SOL son los husos de sueño y la actividad delta. Teniendo que la estructura básica donde se

presenta la actividad lenta es la corteza cerebral. Jouvet (1961) observó la ausencia de ritmo lento en los animales neocortecados. Posteriormente Villablanca (1974), demostró la existencia de delta en corteza cerebral aislada. Sin embargo, los mecanismos de organización de esta actividad tienen su base en las redes tálamo-corticales. En el tálamo y la corteza durante el SOL se ponen en marcha circuitos con oscilaciones intrínsecas a las frecuencias respectivas, donde participan neuronas glutamatérgicas de proyección e interneuronas gabaérgicas (McCormick, 1992). Las aminas biogénicas, la acetilcolina y glutamato que se liberan durante el despertar y la vigilia, suprimen la actividad lenta de las neuronas talámicas y corticales (Reinoso-Suárez, 1997). Lo que indica que las redes neuronales responsables de las distintas fases del ciclo sueño-vigilia, son necesarias para que se produzca el SOL (Mariné y Mancia 1993).

Es indudable la participación de diversas estructuras subcorticales en el SOL. El grupo de Batini (1959), trabajando en el gato, describió que haciendo una sección del neuro-eje a nivel de la porción media del puente, que deja intacto al NRPO, el EEG permanece activado, sin ondas lentas. Posteriormente Magnes et al., (1961), encuentra que con la estimulación eléctrica a baja frecuencia del NTS, tiene lugar una sincronización EEG. Y por el contrario, se produce desincronización EEG con la destrucción de este núcleo (Bonvallent y Allen, 1963). Sumado a lo anterior, la tasa de disparo de las neuronas del NTS es mayor durante el SOL en comparación con la vigilia (Eguchi y Satoh, 1980). Además, la estimulación eléctrica del complejo vagal en preparaciones semicrónicas, provoca la aparición de signos del SOL, como dilatación pupilar y EEG con ondas lentas aun después de la lesión del núcleo dorsal del rafe (Sakai y Crochet, 2000), que también juega un papel importante durante el sueño lento.

El complejo nuclear del rafe participa en los mecanismos del SOL (Jouvet, 1972a). Los

distintos núcleos de este complejo poseen aferencias y eferencias anatómicas específicas e interconexiones específicas entre si. La mayoría de células serotoninérgicas se localizan en estos núcleos, además de gaba, noradrenalina, encefalina, somatostatina, sustancia P, colecistoquinina, neuropéptido Y y factor liberador de tirotrópina (Villar, 1994).

Lesiones específicas al complejo nuclear del rafe, permitieron describir la influencia de cada uno de los núcleos de éste con el sueño. Lesionando 70-80% al rafe se produce insomnio total durante tres o cuatro días, después hay un restablecimiento del sueño, pero que no excede del 10% del tiempo total (Jouvet y Renault, 1967; Jouvet, 1967a); mientras que lesiones menores del 15% no afectan al sueño (Jouvet et al, 1966; Jouvet, 1969). La destrucción del núcleo rafe dorsalis (NRD) induce un estado permanente de alerta en los primeros 2 o 3 días, aunque el sueño MOR se presenta periódicamente (Jouvet y Renault, 1967); y la destrucción de la región caudal del rafe (núcleo del rafe pontis y magnus) provoca la desaparición casi total del MOR, mientras que el SOL solamente disminuye un 40%, lo que sugiere que las neuronas de la región caudal del rafe se encuentran vinculadas en mayor medida a los periodos transitorios de SOL a sueño MOR (Cespuglio et al., 1979). Además, la estimulación eléctrica breve y de bajo voltaje del NRD disminuye la latencia de aparición del SOL (Fernández-Guardilla et al., 1981).

Jouvet (1969, 1972a), propuso la existencia de una relación entre la cantidad de serotonina cerebral y el tiempo de sueño. La inhibición farmacológica de la serotonina con la Paraclorofenilalanina (PCPA), provoca una disminución del SOL y del sueño MOR, que es reversible con la administración de DL-5-hidroxitriptofano (precursor la serotonina) Posteriormente, analizando la actividad neuronal y de la serotonina del NRD (medida por medio de la voltametría), se encontró que ambas alcanzan sus niveles más elevados durante la vigilia y se

deprimen durante el SOL y llegan prácticamente a desaparecer durante el sueño MOR (Cespuglio et al., 1981).

Sin embargo, la relación entre la serotonina y la activación de redes talamocorticales para los estados de alertamiento no es del todo clara. Estudios electrofisiológicos demostraron que la serotonina inhibe las neuronas talamocorticales (Rogawski et al., 1980; Kayama et al., 1989; Monckton y McCormick, 2002) y excita a las neuronas gabaérgicas del núcleo reticular del tálamo (McCormick y Wang, 1991), del mismo modo que a las neuronas locales gabaérgicas en el tálamo y en la corteza cerebral (Monckton y McCormick, 2002; Sheldon y Aghajanian, 1990). Lo cual sugiere que la serotonina tendría el papel de neurotransmisor promotor del sueño por inhibir directamente a las neuronas talamocorticales y excitar a las interneuronas gabaérgicas de la corteza y el tálamo que daría lugar a la reducción de la actividad neuronal, es decir a la sincronización EEG (Sakai y Crochet, 2001a).

Sumado a lo anterior, se ha descrito una actividad, que se podrían calificar de atípica, en neuronas de serotonina del NRD, ya que muestran una mayor frecuencia de descargas tónicas durante el SOL (Sakai y Crochet, 2001a), contrario a lo descrito en las neuronas, ahora típicas, del mismo núcleo. Lo anterior estaría acorde a lo descrito en los trabajos pioneros de lesiones en el NRD (Jouvet, 1972b). La supresión de la actividad de las neuronas de este núcleo por la aplicación local de 8-OH-DPAT, un agonista de los auto-receptores de serotonina, o por musimol, provoca de manera dosis dependiente un aumento de la vigilia y una disminución del SOL sin afectar la generación del sueño MOR (Sakai y Crochet, 2001b).

Además del rafe, se ha descrito la participación de la región preóptica del hipotálamo en los mecanismos del SOL. Nauta (1946), mostró que las lesiones en esta región provocan un

estado de insomnio. Registros unitarios y multiunitarios en la región preóptica en animales despiertos mostraron que coexisten neuronas activas durante el sueño con otras que están activas durante la vigilia; ambas se encuentran extensamente distribuidas en la parte medial y lateral del área preóptica y en la parte basal del cerebro anterior (Kaitin, 1984; Koyama y Hayaishi, 1994; Ogawa y Kawamura, 1988; Osaka y Matsumura, 1994; Szymusiak y McGinty, 1986). Asimismo, las neuronas de área preóptica tienen una mayor tasa de disparo espontánea durante el SOL que durante la vigilia jugando un papel determinante en el inicio del sueño, ya que el aumento en el disparo comienza pocos segundos antes de iniciar el SOL (Szymusiak y McGinty, 1986). Aunque las neuronas colinérgicas y noradrenérgicas del tallo cerebral que están activas durante la vigilia y muestran cierto aumento en su tasa de disparo durante las transiciones de vigilia a SOL y de SOL a vigilia, las neuronas del área preóptica, no se anticipan a la aparición de la vigilia, además de que no se observa una reducción de la actividad neuronal durante los últimos segundos del SOL previos a la vigilia, sino que la actividad se acopla segundos después del despertar, por lo que se ha propuesto que el papel del área preóptica en el despertar es secundario (Szymusiak y McGinty, 1986)

## **MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL MOR**

Las Neuronas serotoninérgicas del NRD y las células colinérgicas de tegmento lateral dorsal (TLD) y TPP, están implicados de manera conjunta en el disparo, instalación y mantenimiento del sueño MOR (McCarley, 1978; Jones, 1993). Desde trabajos pioneros, usando estrategias farmacológicas se describió el posible papel de las monoaminas en el control del sueño MOR. La administración de reserpina, que disminuye los niveles de éstas, provoca un estado de

insomnio hasta de 24 horas, reversible con aplicación de dopamina (Matsumoto y Jouvet, 1964). La administración de alfa-metil-DOPA, que desplaza a la noradrenalina, suprime la aparición del sueño MOR entre 16 y 20 horas, mientras que la administración de Disulfiram (sustancia que afecta al metabolismo de la noradrenalina), provoca la disminución del sueño MOR y de la vigilia (Dusan-Peyrethon y Froment, 1968).

Diversos trabajos, indican que las neuronas colinérgicas de TPP están involucradas en la instalación del sueño MOR por medio de las proyecciones hacia la formación reticular pontina y al tálamo. Desde su demostración inicial (George et al., 1964), los mecanismos colinérgicos del tallo cerebral fueron involucrados en la inducción del sueño MOR. Varios trabajos han confirmado que cuando se inyectan agonistas colinérgicos en el NRPO es inducido el sueño MOR (Baghdoyan et al., 1984, 1989, 1993; Vanni-Mercier et al., 1989; Yamamoto et al., 1990a; Yamuy et al., 1993). El NRPO recibe inervaciones colinérgicas del TLD y de TPP (Mitani et al., 1988; Shiromani et al., 1988), y lesiones en las neuronas colinérgicas de estos núcleos inhiben al sueño MOR (Webster y Jones, 1988), mientras que la estimulación eléctrica de los mismos lo aumenta (Thakkar et al., 1996). Se ha descrito que grupos de neuronas del TPP descargan unos segundos antes de iniciar el sueño MOR y durante éste, otras descargan durante la vigilia y durante el sueño MOR (El Mansari et al., 1989; Kayama et al., 1992; Steriade et al., 1984; Thakkar et al., 1998). Y en contraste con las neuronas mesopontinas, las neuronas noradrenérgicas del LC y las neuronas serotoninérgicas del NRD, presentan un patrón de descarga que es lo más cercano a lo opuesto del TPP, su mayor tasa de disparo es durante la vigilia, declina durante el SOL y prácticamente desaparece durante el sueño MOR, tanto en el NRD (McGinty y Harper, 1976; Lydic et al., 1987; Jacobs y Fornal, 1991), como en el LC (Hobson et al., 1975; Foote et al.,



1983). Además, hay evidencia anatómica de que el NRD envía proyecciones de serotonina hacia el LTD y TPP (Semba y Fibiger, 1992; Honda y Semba, 1994; Steininger et al., 1997), y que ésta ejerce una modulación sobre las neuronas del LTD y TPP que generan el sueño MOR (Cespuglio et al., 1979; Portas et al., 1996; Sanford et al., 1994; Horner et al., 1997).

Las neuronas del campo tegmental gigantocelular (CTG) desempeñan un papel en la generación del sueño MOR (Hobson et al., 1974, Steriade y Hobson, 1976), presentando un patrón de disparo fásico tanto en la vigilia como en el sueño MOR, lo que sugiere que este conjunto de neuronas no está relacionado selectivamente con la generación de éste (Sastre et al., 1981; Sakai et al., 1983; Steriade et al., 1984), sino que ocurre en consecuencia de la interacción recíproca entre las neuronas colinoceptivas del CTG y grupos de neuronas monoaminérgicas del NRD y del LC; la lesión electrolítica y química del CTG no afecta los aspectos cuantitativos y cualitativos del sueño MOR (Sastre et al., 1981). Se tiene entonces, una relación recíproca inversa, en el tallo cerebral, entre las estructuras monoaminérgicas (serotoninérgicas, noradrenérgicas y adrenérgicas) y los núcleos donde hay neuronas colinérgicas, y ambas participan en los mecanismos centrales del sueño MOR. Debido a los patrones de disparo que presentan se les denominó *REM-on* (de las siglas en inglés) a las células colinérgicas, y a células monoaminérgicas *REM-off* (de las siglas en inglés). Las primeras se localizan en el TP mediodorsal, en especial en el Peri-LC- $\alpha$ , la parte medial del LC- $\alpha$  y en el bulbo raquídeo. Las células *REM-off* se distribuyen difusamente en el tallo cerebral. Al registrar las *REM-on* y las *REM-off* simultáneamente, se observan cambios de actividad en ambos tipos de células relacionados estrechamente con las transición del SOL al MOR y viceversa. Las *REM-on* disparan de manera tónica y específicamente durante los periodos de MOR, mientras que las

*REM-off* cesan su disparo durante este periodo del sueño; esto sugiere que las neuronas *REM-on* juegan un papel ejecutor en la instalación y mantenimiento del MOR, mientras que las *REM-off* un papel permisivo en la generación del MOR (Sakai, 1985; 1986). La aplicación tópica de carbacol en el Peri-LC- $\alpha$ , LC- $\alpha$  y en el CTM, provoca la aparición de episodios prolongados de sueño MOR, con una latencia corta (5 a 7 minutos) (Vivaldi et al., 1980; Baghdoyan et al., 1989; Vanni-Mercier et al., 1989, 1991; Yamamoto et al., 1990a, 1990b).

Hay zonas sensibles para la inducción del sueño MOR por la aplicación de carbacol como el CGT y el CTM (Baghdoyan et al., 1984; Vanni-Mecier et al., 1989; Yamamoto et al., 1990a; Yamamoto et al., 1990b), a pesar de que carecen en absoluto de células colinérgicas (Shiromani et al., 1988), siendo ésta más bien zonas colinoceptivas; lo que sugiere, que los impulsos colinérgicos para la inducción del sueño MOR tienen su origen en la PBL, esta sí con neuronas colinérgicas que proyectan abundantes eferencias hacia el CGT, el CTM (Mitani et al., 1988; Quattrochi et al., 1989) y hacia la región dorsolateral del TP (Yamamoto et al., 1990a).

Aplicando microinyecciones de carbacol en la PBL, se describió un aumento duradero (6 a 8 días) y significativo de los episodios de SFOL y de MOR, además de un estado de activación EEG y la ocurrencia ininterrumpida de salvas PGO, independientemente de las fases de sueño (Calvo et al., 1992). Así se propone que los impulsos colinérgicos para la inducción del sueño MOR se originan en la PBL (Dolabela y Singer, 1987; Jones y Beaudet, 1987), que es donde se generan los potenciales PGO (Mitani et al., 1988; Quattrochi et al., 1998).

La aplicación tópica de triptofano, en la parte rostral y ventral del hipotálamo revierte el insomnio producido por la PCPA y produce un aumento significativo del sueño MOR (Denoyer et al., 1989). Lo que sugieren que a nivel del hipotálamo, la serotonina pone en marcha un

mecanismo hipotálamo-hipofisiario que activa los mecanismos ejecutores del sueño MOR (Jouvet, 1984), además puede estar bajo la influencia inhibitoria de la región postero-ventral del hipotálamo, pues su lesión provoca el aumento significativo del sueño MOR (Jouvet, 1988). Por lo tanto, existen dos centros hipotalámicos para la regulación del sueño MOR, uno anterior facilitatorio y otro posterior inhibitorio.

Muchos neuropéptidos han sido involucrados en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Los primeros reportes mostraron que la administración intra cerebro-ventricular de neuropéptidos tales como la angiotensina II, la renina, sustancia P y la arginina-vasotocina, disminuyen el tiempo de MOR a expensas de un aumento de SOL (Riou et al., 1982a). El VIP, que se encuentra distribuido en el núcleo supraquiasmático y en el tallo cerebral, provoca el aumento del SOL y del sueño MOR y revierte la abolición de éste provocado por la administración de PCPA (Riou et al., 1982b, 1982c; Drucker-Colin et al., 1990, Prospero-García et al., 1993). Además la aplicación tópica del VIP en la amígdala del lóbulo temporal, provoca un aumento del sueño MOR y de los potenciales PGO (Simón-Arceo et al., 2003). También, se ha demostrado que la hormona adrenocorticotropina aumenta el tiempo total de vigilia, mientras que péptidos derivados de la hormona estimulante de los melanocitos y el CLIP, aumenta el SOL y el sueño MOR (Chastrette y Cespuglio, 1985).

Jouvet (1988) demostró que los sistemas hipotalámicos y bulbares encargados de la regulación de la temperatura, participan de manera importante en los mecanismos de instalación del sueño MOR. En gatos sin el eje hipotálamo-hipofisiario y disminuyendo la temperatura ambiental (lo que reduce la temperatura cerebral de los animales), el sueño MOR comienza a presentarse de manera cíclica y abundante a partir de los 35.5 grados, alcanzando su mayor

cantidad al rededor de los 32 grados, sugiriendo que los sistemas ponto-bulbares encargados de controlar la vasomotricidad y en especial el núcleo para-giganto-celular, juega un papel importante en los mecanismos de instalación del sueño MOR. Dicho núcleo contiene abundantes eferencias excitatorias hacia el LC, cuyas neuronas adrenérgicas tienen una influencia inhibitoria sobre los mecanismos colinérgicos del sueño MOR, por lo tanto, la inhibición de este núcleo al disminuir la temperatura, dificultaría los mecanismos adrenérgicos del LC, lo que permitiría la activación de los mecanismos colinérgicos del sueño MOR.

Se ha propuesto que el gaba, ejerce un papel modulador en la regulación del sueño MOR en diversas áreas hipnogénicas, su generación puede depender de la activación de las neuronas colinérgicas y la simultánea inactivación de las neuronas noradrenérgicas del LC, donde las células gabaérgicas locales tendrían un papel preponderante (Gervasoni et al., 1998; Jones, 1991; Nitz y Siegel, 1997, Pal et al., 2005). La aplicación de microinyecciones de picrotoxina, un antagonista de gaba-A en el área medial preoptica-anterior del hipotálamo provoca la disminución en el tiempo total, duración promedio y frecuencia del sueño MOR (Alí et al., 1999). La inyección de gaba y musimol (agonista del receptor gaba-A) en el NRPO de gatos induce vigilia y suprime tanto el SOL como al sueño MOR, mientras que la aplicación de antagonistas de gaba-A en la misma área, provoca la aparición prolongada de sueño MOR (Xi et al., 1999). Asimismo, está bien documentada la relación entre la neuronas colinérgicas y gabaérgicas de NRPO que juegan un papel determinante en la generación del sueño MOR (Xi et al., 2004).

Finalmente, cabe mencionar que son muchos las sustancias neuroactivas y las áreas del sistema nervioso que podrían influir e incluso regular a los estadios del ciclo sueño-vigila. También existen varios trabajos cuyos resultados todavía causan controversia. Sin embargo, sólo

se pretendió dar una visión general de los mecanismos fisiológicos que se han planteado para este proceso.

## **ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL NERVIO VAGO**

El Nervio vago está formado por la convergencia de fibras aferentes y eferentes; motoras viscerales generales (parasimpáticas) y especiales, sensitivas viscerales generales y especiales, fibras sensitivas somáticas. Se sitúa en la vaina carotídea (paquete vásculo-nervioso del cuello), entre la vena yugular interna (lateralmente) y la arteria carótida (medialmente). A nivel de la raíz del cuello, sobre el lado derecho, el nervio discurre anterior a la arteria subclavia y penetra en el tórax y en el lado izquierdo discurre entre las arterias carótida común y subclavia para entrar en el tórax. Las fibras parasimpáticas inervan el corazón, los pulmones y el tubo digestivo casi hasta el ángulo esplénico del colon; mientras que las fibras motoras viscerales especiales inervan los fascículos estriados de la laringe, la faringe y el paladar.

Las fibras sensitivas viscerales generales proceden de la mucosa del paladar, la faringe, la laringe, el corazón, los pulmones y el tubo digestivo. Las fibras sensitivas viscerales especiales de gusto proceden de la valécula y la epiglotis. Finalmente las fibras sensitivas somáticas inervan la parte posterior del conducto auditivo externo y de la membrana timpánica.

### **Nervio vago cervical**

El nervio vago cervical corre paralelo a la arteria carótida formando varias ramas nerviosas. A nivel del ganglio yugular forma la rama del nervio auricular y la rama meníngea, la primera inerva la parte posterior del conducto auditivo externo y de la membrana timpánica, mientras la segunda inerva la dura de la fosa craneal posterior. El nervio faríngeo se forma a nivel del ganglio nodoso, discurriendo entre las arterias carótidas interna y externa hasta llegar al plexo faríngeo e inervan los fascículos la mucosa de la faringe y el velo del paladar. El nervio laríngeo

superior desciende entre la faringe (medialmente) y las carótidas interna y externa, se divide por debajo del hioides en sus ramas superior (interna) e inferior (externa), la superior perfora la membrana tirohioidea e inerva la mucosa de la laringe por encima de las cuerdas vocales, mientras que el inferior desciende por la laringe e inerva el fascículo cricotiroideo (Kalia y Mesulam, 1980a; Lumley et al., 1985)

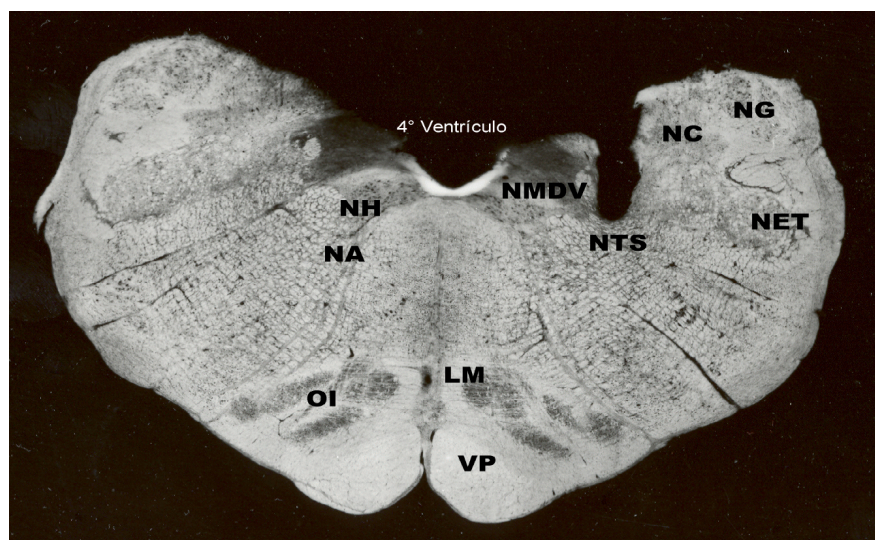
El nervio laríngeo inferior (o recurrente) derecho, rodea la arteria subclavia derecha y asciende luego por el surco entre el esófago y la tráquea. Penetra en la laringe e inerva los fascículos intrínsecos excepto el cricotiroideo y la mucosa situada por debajo de las cuerdas vocales. Se integra al nervio vago a nivel de la arteria subclaviana del lado derecho y al nivel del arco aórtico del lado izquierdo. Hacia el cráneo, esta rama cursa junto con la tráquea y el esófago a los que a su vez inerva (Dovas, et al, 1998). Además, emite proyecciones principalmente hacia los bronquios, los pulmones y el corazón. En la parte más caudal el nervio vago de ambos lados acompaña al esófago y junto con éste cruzan el diafragma, dando paso a la formación del vago abdominal. (Chambert, et al., 1993; Kalia y Mesulam, 1980b). Existe también, una rama cervical cardiaca, llamada también rama aórtica o nervio depresor, se forma por varias ramas de distintos tipos, se extiende a lo largo del nervio vago cervical descendiendo por ambos lados hasta los plexos cardiacos; y contiene la mayoría de las fibras aferentes de los barosensores del arco aórtico (Helke et al., 1980).

### **Núcleos vagales**

Los núcleos vagales situados en la región del bulbo se distribuyen como: dorsales motor y sensitivo (parasimpático), el núcleo ambiguo (NAMB) (motor visceral especial) y el núcleo del

tracto solitario (sensitivo visceral) (Ter Horst y Streefland 1994) (Fig. 2). Las fibras sensitivas somáticas se conectan con el núcleo sensitivo del trigémino. El nervio sale del bulbo por fuera de la oliva en forma de pequeñas raíces y del cráneo a través del agujero rasgado posterior, con el seno petroso inferior y el nervio glossofaríngeo medialmente y el nervio espinal y la vena yugular interna lateralmente. Desciende por el cuello y el tórax hasta el plexo esofágico en donde se une con el nervio del otro lado para formar los troncos vagales anterior y posterior. Junto a la base del cráneo el vago conforma los ganglios sensitivos superior e inferior. (Lumley et al., 1985).

Las terminales centrales de las aferentes vagales primarias son encontradas mayoritariamente en el NTS y en el área postrema, y en menor medida en el núcleo motor dorsal del vago (NMDV) y en las islas trigeminales. Los subnúcleos laterales del NTS están más relacionados con el sistema respiratorio y cardíaco. Mientras que en el área postrema y en el núcleo motor dorsal del vago están las vías relacionadas con el canal digestivo (Lumley et al., 1985).



**Figura 1.** Fotografía de un corte del cerebro de un gato hecha con el procedimiento rápido. Se muestran algunos núcleos del complejo vagal y la posición del electrodo en el NTS. Otros núcleos: ambiguo (NA), cuneatus (NC), gracilis (NG), externo del trigémino (NET), del hipogloso (NH), motor dorsal del vago (NMDV), Oliva inferior (OI), Lemnisco medio (LM), Vía piramidal (VI).



## **Fibras del nervio vago**

El nervio vago es un nervio mixto, de tipo motor y sensorial; constituido por fibras aferentes y eferentes, somáticas y viscerales. Estas fibras son en su mayoría no mielinizadas del tipo C (65-80% en el gato) y algunas mielinizadas del tipo B y A (Foley y DuBois, 1937; Woodbury y Woodbury, 1990).

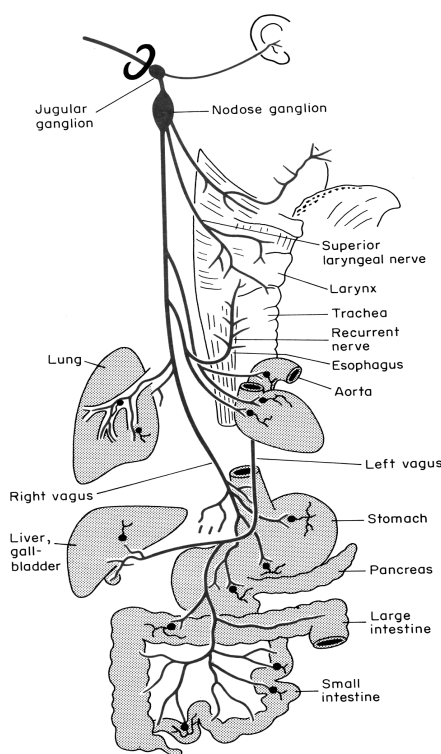
### *Fibras eferentes*

Las fibras eferentes inervan el músculo estriado de la laringe y el fórnix, y proporciona inervaciones parasimpáticas al corazón, los pulmones, el tracto intestinal y otros órganos viscerales del abdomen (Brodal, 1981). Las neuronas eferentes especiales inervan los músculos de la laringe (originadas particularmente en las ramificaciones laríngeas del vago) y la faringe, que tienen localizado su soma en el NAMB. Las fibras eferentes viscerales generales, se originan de neuronas preganglionares localizadas en el NMDV. La activación de estas fibras produce constricción bronquial, incremento en las secreciones pulmonares, bradicardia, incremento en la secreción gastrointestinal y pancreática, incremento en la peristalsis y diversos efectos sobre el esfínter gastrointestinal proximal a la flexura esplénica.

### *Fibras aferentes*

Las aferentes son principalmente de tipo visceral y se originan de receptores en los pulmones, la aorta, el corazón, el esófago, el tracto gastrointestinal y los quimiorreceptores de la aorta (Paintal, 1973). Además, existe un componente aferente somático sensorial mielinizado que envía información sensorial de la concha del oído (Brodal, 1981). Las fibras aferentes del nervio

vago tienen su origen en el ganglio nodoso de donde se proyectan hacia el tracto solitario y terminan en el NTS, de ahí se distribuyen hacia el hipotálamo, la amígdala, el NRD, el NAMB, el NMDV, la PBL, el tálamo, la corteza insular (Rhoton et al., 1966; Aghajanian y Wang, 1977; Ricardo y Ko, 1978, Saper y Loewy, 1980; Saper, 1982; Cechetto, 1987). Estas proyecciones son consideradas como mediadoras de reflejos importantes para la función visceral como toser, vomitar, deglutir y los reflejos barocepvicos. Las proyecciones al hipotálamo son importantes en las conductas de alimentación y saciedad, así como en la presión sanguínea y la conservación de la homeostasis (Fig 2).



**Figura 2.** Esquema tomado de Brodal (1981) donde se señalan las el curso y distribución de las fibras del nervio vago

Por otra parte, existen aferentes que proyectan a la formación reticular medial, la médula espinal, el NMDV, el área postrema y el núcleo cuneatus (Rhoton et al., 1966; Crill y Reis, 1968; Miura y Reis, 1972; Paintal, 1973; Car et al., 1975; Beckstead y Norgrem 1979; Kalia y Mesulam 1980b; Cechetto, 1987).

### **Transmisores del sistema vagal**

El nervio vago cuenta con múltiples sistemas de transmisión (Leslie, 1985), en los que participan aminoácidos, monoaminas, péptidos y otras sustancias neuroactivas como el óxido nítrico (Zhuo et al., 1997). Lesionando el ganglio nodoso se observó una disminución en la unión de un ligando a su receptor de glutamato (Lewis et al., 1988), colecistoquinina (Ladenheim et al., 1988) y neurotensina (Kessler y Beaudet, 1989). Aunado a esto, se ha demostrado el contenido de receptores neuropeptídicos, incluido el angiotensin II (Diz et al., 1987).

En el NMDV, el NTS y el NAMB del complejo vagal dorsal se contiene una gran cantidad de péptidos opioides endógenos (met y leu encefalinas), los cuales juegan un papel importante en las funciones selectivas motoras y viscerales (gastrointestinales, cardiovasculares y respiratorios) (Milner et al., 1995).

## REFERENCIAS

- Achermann P, Borbély AA. (1997) Low-frequency (< 1 Hz) oscillations in the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience*, 81: 213-222.
- Aghajanian GK, Wang RY. (1977) Habenular and other midbrain raphe afferents demonstrated by a modified retrograde tracing technique. *Brain Res.*, 122: 229-242.
- Alí M, Jha SK, Kaur S, Mallick NB. (1999) Role of GABA-A receptor in the preoptic area in the regulation of sleep-wakefulness and rapid eye movement sleep. *Neurosci. Res.*, 33: 245-250.
- Allchin RE, Batten TF, McWilliam PN, Vaughan PFT. (1994) Electrical stimulation of the vagus increases extracellular glutamate recovered from the nucleus tractus solitarii of the cat by in vivo microdialysis. *Exp. Physiol.*, 79: 265-268
- Amzica F, Steriade M. (1995) Disconnection of intracortical synaptic linkages disrupts synchronization of a slow oscillation. *J. Neurosci.*, 15: 4658-4677.
- Amzica F, Steriade M. (1997) The K-complex: Its slow (< 1-Hz) rhythmicity and relation to delta waves. *Neurology*, 49: 952-959.
- Amzica F, Steriade M. (1998) Electrophysiological correlates of sleep delta waves. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 107: 69-83.
- Anden NE. (1966) Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. *Acta. Phisiol. Scand.*, 67: 313-326.
- Arnolds DE, Aitink JW, Boeyinga P, Lopes de Silvia FH. (1979) Hippocampal EEG in dog, cat, and man. *Rev. Electroencephalogr. Neurophysiol. Clin.*, 9: 326-332.
- Aserinsky E, Kleitman N. (1953) Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science*, 118: 273-274.
- Ayala F. (1976) Actividad ponto-genículo-occipital (PGO) durante el sueño del gato. *Ser. Biol. Exp.*, 1: 5-20.
- Ayala F. (1983) Filogenia del sueño: Los mamíferos. *Bol. Estud. Med. Biol. Méx.*, 32: 67-82.
- Baghdoyan HA, Lydic R, Callaway CW, Hobson JA. (1989) The carbachol-induced enhancement of desynchronized sleep signs is dose dependent and antagonized by centrally administered atropine. *Neuropsychopharmacology*, 2: 67-79.
- Baghdoyan HA, Rodrigo-Angulo ML, McCarley RW, Hobson JA. (1984) Site-specific

enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem region. *Brain. Res.*, 306: 39-52.

Bailey P, Bremer F. (1938) A sensory cortical representation of the vagus nerve with a note on the effects of low blood pressure on the cortical electrogram. *J. Neurophysiol.*, 1: 405-412.

Bal T, Von Krosigk M, McCormick DA. (1995a) Synaptic and membrane mechanisms underlying synchronized oscillations in the ferret lateral geniculate nucleus in vitro. *J. Physiol.*, 483: 641-663.

Bal T, Von Krosigk M, McCormick DA. (1995b) Role of the ferret perigeniculate nucleus in the generation of synchronized oscillations in vitro. *J. Physiol.*, 483: 665-685.

Batini C, Magni F, Paletini M, Rossi GF, Zanchetti A. (1959) Neural mechanisms underlying the enduring EEG and behavioral activation in the midpontine pretrigeminal cat. *Arch. Ital. Biol.*, 97: 13-25.

Bazhenov M, Timofeev I, Steriade M, Sejnowski TJ. (2000) Spiking-bursting activity in the thalamic reticular nucleus initiates sequences of spindle oscillations in thalamic networks. *J. Neurophysiol.* 84: 1076-1087.

Beckstead RM, Norgren R. (1979) An autoradiographic examination of the central distribution of the trigeminal, facial, glossopharyngeal, and vagus nerve in monkeys. *J. Comp. Neurol.*, 18: R301-307.

Benington JH, Kodali SK, Heller HC. (1994) Scoring transitions to REM sleep in rats based on the EEG phenomena of pre-REM sleep: an improved analysis of sleep structure. *Sleep*, 17: 28-36.

Ben-Menachem E. (2001) Vagus nerve stimulation, side effects, and long-term safety. *J. Clin. Neurophysiol.*, 18: 415-418.

Ben-Menachem E, Manon-Espaillat R, Ristanovic R, Wilder BJ, Stefan H, Mirza W, Tarver WB, Wernicke JF. (1994) First International Vagus Nerve Stimulation Study Group. Vagus nerve stimulation for treatment of partial seizures: 1. A controlled study of effect on seizures. *Epilepsia*, 1994, 35: 616-626.

Berger H. (1929) Uber das elektroencephalogram de menchen. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 87: 527-570.

Berlucchi G, Moruzzi G, Salvo G, Strata P. (1964) Pupil behavior and ocular movement during synchronized and desynchronized sleep. *Arch. Ital. Biol.*, 102: 230-244.

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

Bonvallet M , Allen MB Jr. (1963) Prolonged spontaneous and evoked reticular activation following discrete bulbar lesions. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 15: 969-988.

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

Bremer F. (1938) L'activité électrique de l'écorde cérébrale et le probleme physiologique du sommeil. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 13: 271-290.

Bremer F. (1977) Cerebral hypnogenic centers. *Ann. Neurol.* 2: 1-6.

Bremer F, Bonnet V. (1951) Convergence et interaction des influx afferents dans l'écorce cérébellouse principe fonctionel du cervelet. *J. Physiol. (Paris)*, 43: 665-667.

Brodal A. (1981) *Neurological anatomy in relation to clinical medicine*. New york, Oxford University Press.

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

Brooks DC, 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.

Calvet J, Calvet MC, Scherrer J. (1964) Etude stratigraphique cortical de l'activite EEG spontanee. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 17: 109-125.

Calvo JM. (1983) *Estudio de la actividad fásica del sueño paradójico en el gato (felis catus): Procesos de generación rombencefálica y propagación a los sistemas talámico, visual y límbico*. Tesis Doctoral en Ciencias Fisiológicas, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Calvo JM, Datta S, Quattrochi J, Hobson JA. (1992) Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the Cat .2. Delayed and prolonged increases in REM Sleep. *Arch Ital. Biol.*, 130: 285-301.

Calvo JM, Fernandez-Guardiola A. (1984) Phasic activity of the basolateral amygdala, cingulate gyrus, and hippocampus during REM sleep in the cat. *Sleep*, 7: 202-210.

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.

- Callaway CW, Lydic R, Baghdoyan HA, Hobson JA. (1987) Ponto-geniculo-occipital waves: spontaneous visual system activity during rapid eye movement sleep. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 7: 105-149.
- Capitani P, Cerri M, Amici R, Baracchi F, Jones CA, Luppi M, Perez E, Parmeggiani PL, Zamboni G. (2005) Changes in EEG activity and hypothalamic temperature as indices for non-REM sleep to REM sleep transitions. *Neurosci. Lett.*, 383: 182-187.
- Car A, Jean A, Roman C. (1975) A pontine primary relay for ascending projections of the superior laryngeal nerve. *Exp Brain Res.*, 22: 197-210.
- Carpenter MB, Pines J. (1957) The robulbar: Anatomical relationships course and terminations in the rhesus monkey. *Anat. Rec.* 128: 171-185.
- Cechetto D. (1987) Central representation of visceral function. *Fed. Proc.*, 46: 17-23.
- Cespuglio R, Faradji H, Gomez ME, Jouvet M. (1981) Single unit recordings in the nuclei raphe dorsalis and magnus during the sleep-waking cycle of semi-chronic prepared cat. *Neurosci. Lett.*, 24: 133-138.
- Cespuglio R, Gomez ME, Walker E, Jouvet M. (1979) Effects du refroidissement et de la stimulation des noyaux du système du raphé sur les états de vigilance chez le chat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 47: 289-308.
- Cespuglio R, Laurent JP, Calvo JM. (1976) Organisation anatomique des activités phasiques provoquées par la reserpine au niveau du système oculo-moteur. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 22:117-132.
- Chambert G, Kobashi M, Adachi A. (1993) Convergence of gastric and hepatic information in brainstem neurons of the rat. *Brain Res. Bull.*, 32: 525-529.
- Chase MH, Morales FR. (1990) The atonia and myoclonia of active (REM) sleep. *Annu. Rev. Psychol.*, 41: 557-584.
- Chase MH, Nakamura Y. (1968) Cortical and subcortical EEG patterns of response to afferent abdominal vagal stimulation: neurographic correlates. *Physiol. Behav.*, 3: 605-610.
- Chase MH, Nakamura Y, Clemente C. (1967) Afferent vagal stimulation: neurographic correlates of induce EEG synchronization and desynchronization. *Brain Res.*, 5: 236-249.
- Chase MH, Serman MB, Clemente CD. (1966) Cortical and subcortical patterns of response to afferent vagal stimulation. *Exp Neurol.*, 16: 36-49.

- Chastrette N, Cespuglio R. (1985) Influence of melanocortine derived-peptides on the sleep-waking cycle of the rat. *Neurosci. Lett.*, 62:365-370.
- Chrobak JJ, Buzsáki G. (1996) High-frequency oscillations in the output networks of the hippocampal-entorhinal axis of the freely behaving rat. *J. Neurosci.*, 16: 3056-3066.
- Collins DR, Lang EJ, Par D. (1999) Spontaneous activity of the perirhinal cortex in behaving cats. *Neuroscience*, 89: 1025-1039.
- Crill WE, Reils DJ. (1968) Distribution of carotid sinus and depressor nerves in brain stem. *Am. J. Physiol.*, 214: 269-276.
- Csicsvari J, Hirase H, Czurk A, Mamiya A, Buzsáki G. (1999) Fast network oscillations in the hippocampal CA1 region of the behaving rat. *J. Neurosci.*, 19: RC20 1-4.
- Curró-Dossi R, Núñez A, Steriade M. (1992) Electrophysiology of a slow (0.5-4 Hz) intrinsic oscillation of cat thalamocortical neurones in vivo. *J. Physiol. (London)*, 447: 215-34.
- Curró-Dossi R, Paré D, Steriade M. (1991) Short-lasting nicotinic and long-lasting muscarinic depolarizing responses of thalamocortical neurons to stimulation of mesopontine cholinergic nuclei. *J. Neurophysiol.* 65: 393-406.
- Dale HH. (1914) The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 6: 147-190.
- Danguir J, De Saint H, Kafi S. (1988) Somatostatin antiserum blocks carbachol-induced increase of paradoxical sleep in the rat. *Brain Res. Bull.*, 20: 9-12.
- Datta S, Calvo JM, Quattrochi J, Hobson JA. (1992) Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the cat. 1. Immediated and prolonged increase in ponto-geniculo-occipital waves. *Arch. Ital. Biol.*, 130: 263-284.
- Datta S. (1995) Neuronal activity in the peribrachial area: relationship to behavioral state control. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 19: 67-84
- Datta S. (1997) Cellular basis of pontine ponto-geniculo-occipital wave generation and modulation. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 17: 341-365.
- De Andrés I. (1998) Ciclo vigilia-sueño, En: Delgado JM, Ferrús A, Mora F, Rubia JF. (Eds.) *Manual de Neurociencia*, España. Ed. Síntesis, 801-816.
- Dell P, Olson P. (1951a) Projections thalamiques corticales et cerebelluses des afferences viscerales vagues. *C. R. Soc. Biol (Paris)*, 145: 1084-1088.



- Dell P, Olson P. (1951b) Projections secondaires mesencephaliques, encephaliques et amygdaliennes des afferences viscerales vagales. *C. R. Soc Biol (Paris)*, 145: 1088-1091.
- Dement WC. (1958) The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioral sleep in the cat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 10: 291-296.
- Dement WC, Kleitman N. (1957) The relation of eye movement during sleep to dream activity. *J. Exp. Psychol.* 53: 339-346.
- Denoyer M, Sallanon M, Kitahama K, Aubert C, Jouvet M. (1989) Reversibility para-chlorophenylalanine-induced insomnia by intrahypothalamic microinjection 1-5-hydroxytryptophan. *Neuroscience*, 28: 83-94.
- Deschenes M, Paradis M, Roy JP, Steriade M. (1984) Electrophysiology of neurons of lateral thalamic nuclei in cat: resting properties and burst discharges. *J. Neurophysiol.*, 51: 1196-219.
- Destexhe A, Contreras D, Sejnowski TJ, Steriade M. (1994) A model of spindle rhythmicity in the isolated thalamic reticular nucleus. *J. Neurophysiol.* 72: 803-818.
- Dijk DJ, Brunner DP, Beersma DGM, Borbély AA. (1990) Electroencephalogram power density and slow wave sleep as a function of prior waking and circadian phase. *Sleep*, 13: 430-440.
- Dijk DJ, Daan S. (1989) Sleep EEG spectral analysis in a diurnal rodent: *Eutamias sibiricus*. *J Comp Physiol.* 165: 205-215.
- Diz DI, Barnes KL, Ferrario CM. (1987) Functional characteristics of neuropeptides in the dorsal medulla oblongata and vagus nerve. *Fed. Proc.*, 46: 30-35.
- Dolabela A, Singer W. (1987) The brainstem projection to the lateral geniculate nucleus in the cat: identification of cholinergic monoaminergic elements. *J. Comp. Neurol.*, 259: 92-121.
- Dovas A, Lucchi ML, Bortolami R, Grandis A, Palladino AR, Banelli E, Carretta M, Magni F, Paolucci N. (1998) Collaterals of recurrent laryngeal nerve fibres innervate the thymus: a fluorescent tracer and HRP investigation of efferent vagal neurons in the rat brainstem. *Brain Res.* 809: 141-148.
- Drucker-Colín R, Arankowsky-Sandoval G, Prospero-García O, Jiménez-Anguiano A, Merchant-Nancy H. (1990) The regulation of sleep: some considerations on the role of vasoactive intestinal peptide, acetylcholine and sensory modalities. En: Mancia M, Marir G. (Eds.). *The Diencephalon and Sleep*, New York. Raven Press, 313-330.
- Duan YF, Winters R, McCabe PM, Green EJ, Huang Y, Schneiderman N. (1994) Modulation of neuronal firing in the medullary solitary complex by electrical stimulation of the hypothalamic

defense and vigilance areas in rabbits. *Brian Res.* 643: 218-226.

Dusan-Peyrethon D, Froment JL. (1968) Effets du disulfiram sur les etats de sommeil chez l chat. *C. R. Soc. Biol.* (Paris), 162: 2141-2145.

Eguchi K, Satoh T. (1980) Characterization of neurons in the region of solitary tract nucleus during sleep. *Physiol. Behav.*, 24: 99-102.

El Mansari M, Sakai K, Jouvet M. (1989) Unitary characteristic of presumptive cholinergic tegmental neurons during the sleep-waking cycle in freely moving cats. *Exp. Brain Res.*, 76: 519-29.

El Mansari M, Sakai K, Jouvet M. (1990) Responses of presumed cholinergic mesopontine tegmental neurons to carbachol microinjections in freely moving cats. *Exp. Brain Res.* 83: 115-123.

Fernández-Guardiola A, Ayala F. (1971) Red nucleus fast activity and signs of paradoxical sleep appearing during the extinction of experimental seizures. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 30: 547-555.

Fernández-Guardiola A, Jurado JL, Calvo JM. (1981) Repetitive low-intensity electrical stimulation of cat's nonlimbic brain structures: dorsal raphe nucleus kindling. En: Wada JA. (Ed.). *Kindling 2*, New York, Raven Press, 123-135.

Fernández-Guardiola A, Martínez A, Fernández-Mas R. (1995) Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23-h recording), and brain mapping study. *Epilepsy Res.*, 22: 127-136.

Fernández-Guardiola A, Martínez-Cervantes A, Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrigal VM, Fernández-Mas R. (1998) Vagus nerve stimulation: Effects on circadian sleep organization and kindling development in the cat. En: Corcoran M, Moshé SL. (Eds), *Kindling 5*, New York, Plenum Press, 495-499.

Fernández-Guardiola A, Martínez-Cervantes A, Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrigal VM, Martínez D, Fernández-Mas R. (1999) Vagus nerve prolonged stimulation in cats: Effects on epileptogenesis (Amygdala electrical Kindling): Behavioral and electrographic changes. *Epilepsia*, 40 : 822-829.

Fernández-Mas R, Valdés A, Martínez A, Magdaleno VM, Almazán S, Martínez D, Fernández-Guardiola A. (1998) Visualización gráfica de las transiciones de las fases del sueño en el hombre: Métodos de representación tridimensional. *Salud Mental*, 21: 27-32.

Foley JO, DuBois F. (1937) Quantitativa studies of the vagus nerve in tha cat. I. The ratio of

sensorial fibers. *J. Comp. Neurol.*, 67: 49-97.

Foote SL, Bloom FE, Aston-Jones G. (1983) Nucleus locus coeruleus: New evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol. Rev.*, 252: 117-27.

Fuentealba P, Timofeev I, Steriade M. (2004) Prolonged hyperpolarizing potentials precede spindle oscillations in the thalamic reticular nucleus. *PNAS.*, 101: 9816-9821.

Fujiki N, Yoshida Y, Shiba T, Parnis S, Nishino S. (2003) Vagus nerve stimulation modulates cataplexy in narcoleptic dogs. *Sleep and Biological Rhythms*, 1: 191-193.

Garnett ES, Nahmias C, Scheffel A, Firanu G, Upton ARM. (1992) Regional cerebral blood flow in man manipulated by direct vagal stimulation. *PACE*, 15: 1579-1580.

Gassel MM, Marchiafava PL, Pompeiano O. (1964) Phasic changes in muscular activity during desynchronized sleep in unrestrained cat. An analysis of the pattern and organization of myoclonic twitches. *Arch. Ital. Biol.*, 102: 449-470.

Gassel MM, Marchiafava PL, Pompeiano O. (1965) Activity of the red nucleus during deep desynchronized sleep in unrestrained cat. *Arch. Ital. Biol.*, 103: 369-396.

Gaztelu JM, Romero-Vives M, Abaira V, García-Austt E. (1994) Hippocampal EEG theta power density is similar during slow-wave sleep and paradoxical sleep. A long term study in rats. *Neurosci Lett.*, 172: 31-34.

George F, Haslett WL, Jenden DJ. (1964) A cholinergic mechanism in the brainstem reticular formation: induction of paradoxical sleep. *Int. J. Neuropharmacol.*, 3: 541-552.

Gervasoni D, Darracq L, Fort P, Souliere F, Chouvet G, Luppi PH. (1998) Electrophysiological evidence that noradrenergic neurons of the rat locus coeruleus are tonically inhibited by GABA during sleep. *Eur. J. Neurosci.*, 10: 964-970.

Golmayo L, Núñez A, Zaborszky L. (2003) Electrophysiological evidence for the existence of a posterior cortical-prefrontal-basal forebrain circuitry in modulating sensory responses in visual and somatosensory rat cortical areas. *Neuroscience*, 119: 597-609.

Gottesmann C. (1992) Detection of seven sleep-waking stages in the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 16: 31-38.

Granata AR, Sved AF, Reis DJ. (1984) In vivo release by vagal stimulation of L-[3H] glutamic acid in the nucleus tractus solitarius preloaded with L-[3H] glutamine. *Brain Res. Bull.*, 12: 5-9.

Granatta AR, Kitai ST. (1989) Intracellular Study of Nucleus Parabrachialis and Nucleus Tractus

Solitarii Interconnections. *Brain Res.*, 492: 281-292.

Grastyan E, Hasznos T, Lissak K, Molvar L, Ruzsonyi Z. (1952) Activation of the brain stem activating system by vegetative afferents; a preliminary report. *Acta. Physiol. Hung.*, 3: 103-122.

Grastyan E., Lissak K., Madarasz I. and DonhoVer H. (1959) Hippocampal electric activity during the development of conditioned reflexes. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* (Suppl), 11: 409-430.

Grenier F, Timofeev I, Steriade M. (2001) Focal synchronization of ripples (80-200 Hz) in neocortex and their neuronal correlates. *J. Neurophysiol.* 86: 1884-1898.

Guzmán-Flores C, Alcaráz M, Fernández-Guardiola A. (1958) Rapid procedure to localize electrodes in experimental neurophysiology. *Bol. Ins. Med. Biol.*, 16: 29-31.

Halsell CB. (1998) Differential distribution of amygdaloid input across rostral solitary nucleus subdivisions in rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 30: 482-485.

Hebert H, Saper CB. (1992) Organization of medullary adrenergic and noradrenergic projections in the periaqueductal gray matter in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 315: 34-52.

Heck C, Helmers SL, DeGiorgio CM. (2002) Vagus nerve stimulation therapy, epilepsy, and device parameters: scientific basis and recommendations for use. *Neurology*, 59 (Suppl 4): 31-37.

Helke CJ, Hill KM. (1988) Immunohistochemical study of neuropeptides in vagal and glossopharyngeal afferent neurons in the rat. *Neuroscience*, 26: 539-551.

Helke CJ, Goldman W, Jacobowitz M. (1980) Demonstration of substance P in aortic nerve afferent fibers by combined use of fluorescent retrograde neuronal labeling and immunohistochemistry. *Peptides*, 1: 359-364.

Hendriks JC, Morrison AR, Mann GL. (1982) Different behaviors during paradoxical sleep without atonia depend on pontine lesion site. *Brain Res.*, 239: 81-105.

Henley K, Morrison AR. (1974) A re-evaluation of the effects of lesions of the pontine tegmentum and locus coeruleus on phenomenon of paradoxical sleep in the cat. *Acta. Neurobiol. Exp.*, 34: 215-232.

Hennemann HE, Rubia FJ. (1978) Vagal representation in the cerebellum of the cat. *Pflügers Arch.*, 375: 125-129.

Henry TR, Bakay RA, Votaw JR, Pennell PB, Epstein CM, Faber TL, Grafton ST, Hoffman JM. (1998) Brain blood flow alterations induced by therapeutic vagus nerve stimulation in partial

- epilepsy: I. Acute effects at high and low levels of stimulation. *Epilepsia*, 39: 983-990.
- Hess WR. (1944) Das schlafsyndrom als folge dienzephaler reizung. *Helv. Physiol. Acta.* 2: 305-344.
- Hess R Jr, Koella WP, Akert K. (1953) Cortical and subcortical recordings in natural and artificially induced sleep in cats. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* (Suppl), 5: 75-90.
- Hirsch JC, Fourment A, Marc ME. (1983) Sleep-related variations of membrane potential in the lateral geniculate body relay neurons of the cat. *Brain Res.* 1983; 259: 308-312.
- Hobson JA. (1964) L'activité électrique phasique du cortex et du thalamus au cours du sommeil désynchronise chez le chat. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, 158: 2131-2135.
- Hobson JA, Datta S, Calvo JM., Quattrochi J. (1993) Acetylcholine as a brain state modulator: triggering and long-term regulation of REM sleep. *Prog. Brain Res.* 98: 389-404.
- Hobson JA, McCarley RW, Pivik RT, Freeman R. (1974) Selective firing by cat pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. *J. Neurophysiol.*, 37: 497-511.
- Hobson JA, McCarley RW, Wyzinski PW. (1975) Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science*, 189: 55-58.
- Honda T, Semba K. (1994) Serotonergic synaptic input to cholinergic neurons in the rat mesopontine tegmentum. *Brain Res.*, 647: 299-306.
- Horner RL, Sanford LD, Annis D, Pack AI, Morrison AR. (1997) Serotonin at the laterodorsal tegmental nucleus suppresses rapid-eye-movement sleep in freely behaving rats. *J. Neurosci.*, 17: 7541-7552.
- Ibuka N, Kawamura H. (1975) Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. *Brain. Res.*, 96: 76-81.
- Jacobs BL, Fornal CA. (1991) Activity of brain serotonergic neurons in the behaving animal. *Pharmacol. Rev.*, 43: 563-578.
- Jahnsen H, Llinas R. (1984) Electrophysiological properties of guinea-pig thalamic neurones: an in vitro study. *J. Physiol.* (London), 349: 205-226.
- Jeannerod M, Mouret J. (1963) Etude comparative des mouvements oculaires observés chez le chat au cours de la veille et du sommeil. *Pathol. Biol.* (Paris), 11: 1053-1060.
- Jones BE. (1991) The role of noradrenergic coeruleus neurons and neighboring cholinergic

- neurons of the ponto mesencephalic tegmentum in sleep-wake states. *Prog. Brain Res.*, 88: 533-543.
- Jones BE. (1993) The organization of central cholinergic systems and their functional importance in sleep- waking states. *Prog. Brain Res.* 98: 61-71.
- Jones BE, Beaudet A. (1987) Distribution of acetylcholine and catecholamine neurons in the c brainstem: a choline acetyltransferase and tyrosine hydroxylase immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.*, 261: 15-35.
- Jouvet M (1961) Thelencephali and Rombencephalic sleep in tha cat. En: *The nature of sleep*. Wolstenholme GEW, O'Connor Y. (Eds), 188-206. London, Churchill.
- Jouvet M. (1962) Recherches sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. *Arch. Ital .Biol.*, 100: 125-206.
- 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. (1969) Biogenic amines and the states of sleep. *Science*, 163: 32-41.
- Jouvet M. (1972a) The role of monoamines and acetylcholine containing neurons in the regulation o the sleep-waking cycle. En: Jouvet M, Moruzzi G. (Eds). *Neurophysiology and neurochemistry of sleep and wakefulness: Reviews of Physiology*. New York, Heidelberg, 166-307.
- Jouvet M. (1972b) The role of monoamines and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleepwaking cycle. *Ergeb. Physiol.* 64: 166-307.
- Jouvet M. (1984) Mécanismes des états de sommeil. En: Benoit (Ed.), *Psysiologie du Sommeil*, New York, Masson, 1-18.
- Jouvet M. (1988) The regulation of paradoxical sleep by the hypothalamo-hypophysis. *Arch. Ital. Biol.*, 126: 259-274.
- Jouvet M, Bobillier P, Pujol JF, Renault J. (1966) Suppression du sommeil et diminution de la serotonine cerebrale par lesion du systeme du raphe chez le chat. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 160: 2343-2350.
- Jouvet M, Delorme JF. (1965) Locus coeruleus et sommeil paradoxal. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 159: 895-899.

- Jouvet M, Michel F. (1959) Correlations electromyographiques du sommeil chez le chat decortique et mesencephalique chronique. *C. R. Soc. Biol.* (Paris), 153: 422-425.
- Jouvet M, Renault J. (1967). Persistence de l'insomnie après des lésions des noyaux du raphé chez le chat. *C. R. Soc. Biol. Fil.*, 160: 1461-1465.
- Kaitin KI. (1984) Preoptic area unit activity during sleep and wakefulness in the cat. *Exp. Neurol.*, 83: 347-53.
- Kalia M, Mesulam MM. (1980a) Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat I: The cervical vagus and nodose ganglion. *J. Comp. Neurol.* 193, 435-465.
- Kalia M, Mesulam MM. (1980b) Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat: II. Laryngeal, tracheobronchial, pulmonary, cardiac, and gastrointestinal branches. *J. Comp. Neurol.* 193: 523-553.
- Kayama Y, Ohta M, Jodo E. (1992) Firing of 'possibly' cholinergic neurons in the rat laterodorsal tegmental nucleus during sleep and wakefulness. *Brain Res.*, 569: 210-220.
- Kayama Y, Shimada S, Hishikawa Y, Ogawa T. (1989) Effects of stimulating the dorsal raphe nucleus of the rat on neuronal activity in the dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* 489: 1-11.
- Kessler JP, Beaudet A. (1989) Association neurotensin binding sites with sensory and visceromotor components of the vagus nerve. *J. Neurosci.*, 9: 466-472.
- Ko D, Heck C, Grafton S, Apuzzo ML, Couldwell WT, Chen T, Day JD, Zelman V, Smith T, DeGiorgio CM. (1996) Vagus nerve stimulation activates central nervous system structures in epileptic patients during PET H<sub>2</sub>(15)O blood flow imaging. *Neurosurgery*, 39: 426-431.
- Koch E. (1932) Die irradiatio der pressoreptorischen Kreislaufreflexe. *Klin. Wsch.*, 11: 225-227.
- Kohlmeier KA, López-Rodríguez F, Chase MH. (1997) Strychnine blocks inhibitory postsynaptic potentials elicited in masseter motoneurons by sensory stimuli during carbachol-induced motor atonia. *Neuroscience.*, 78: 1195-1202.
- Kosel M, Schlaepfer TE. (2003) Beyond the treatment of epilepsy: new applications of vagus nerve stimulation in psychiatry. *CNS Spectr.*, 8: 515-521.
- Koyama Y, Hayaishi O. (1994) Firing of neurons in the preoptic/anterior hypothalamic areas in rat: its possible involvement in slow wave sleep and paradoxical sleep. *Neurosci. Res.* 19: 31-8.

- Kuwabara N, Seki K, Aoki K. (1986) Circadian, sleep and brain temperature rhythms in cats under sustained daily light-dark cycles and constant darkness. *Physiol. Behav.*, 38: 283-289.
- Ladenheim EE, Spath, EC, Ritter RC. (1988) Reduction of CCK-8-binding in the nucleus of the solitary tract in the unilaterally nodosectomized rats. *Brain Res.*, 474: 125-129.
- Laguzzi R, Ries DJ, Talman WT. (1984) Modulation of cardiovascular and electrocortical activity through serotonergic mechanisms in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res.*, 304: 321-328.
- Lai YY, Clements JR, Siegel JM. (1993) Glutamatergic and cholinergic projections to the pontine inhibitory area identified with horseradish peroxidase retrograde transport and immunohistochemistry. *J. Comp Neurol.*, 336: 321-330.
- Lancel, M. (1993) Cortical and subcortical EEG in relation to sleep-wake behavior in mammalian species. *Neuropsychobiology*, 28:154-159.
- Lancel M, Van Riezen H, Glatt A. (1991) Effects of circadian phase and duration of sleep deprivation on sleep and EEG power spectra in the cat. *Brain Res.*, 548: 206-214.
- Lancel M, Van Riezen H, Glatt A. (1992) Enhanced slow-wave activity within NREM sleep in the cortical and subcortical EEG of the cat after sleep deprivation. *Sleep*, 15:102-118.
- Leslie RA. (1985) Neuroactive substances in the dorsal vagal complex of the medulla oblongata: Nucleus of the tractus solitarius, area postrema, and dorsal motor nucleus of the vagus. *Neurochem Int.*, 7: 191-211.
- Lewis SJ, Verberne JM, Summers RJ. (1988) Reduce glutamate binding in rat dorsal complex after nodose ganglionectomy. *Brain Res Bull.*, 21: 913-915.
- Loewi O, Navratil E. (1926) Über humorale übertragbarkeit der hertznervenwirkung. X. Mitteilung. Über das schicksal des vagusstoff. *Pflügers Arch Gesamte Physiol.*, 214: 678-688.
- Loomis A, Harvey EY, Hobart G. (1937) Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. *J. Exp. Psychol.*, 21: 127-144.
- Lucas EA. (1979) Effects of a short light-dark cycle on the sleep-wake patterns of the cat. *Sleep*. 1: 299-317.
- Lumley JSP, Craven JL, Aitken T. (1985) *Oído, región intracraneal y nervios craneales. Anatomía esencial. Aplicaciones técnicas.* Barcelona. Salvat, 333-347.
- Lydic R, McCarley RW, Hobson JA. (1987) Serotonin neurons and sleep. I: Long term



recordings of dorsal raphe discharge frequency and PGO waves. *Arch. Ital. Biol.*, 125: 317-343.

Magdaleno-Madrigal (2004) Estimulación eléctrica del nervio vago: de lo experimental a lo clínico. *Rev. Neurol.*, 39: 971-977.

Magnes J, Moruzzi G, Pompeiano O. (1961) Synchronization of the EEG produced by low frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. *Arch. Ital. Biol.*, 99: 33-67.

Malow BA, Edwards J, Marzec M, Sagher O, Ross D, Fromes G. (2001) Vagus nerve stimulation reduces daytime sleepiness in epilepsy patients. *Neurology.*, 57: 879 -884.

Mandile PS, Vescia P, Montagnese F, Romano A, Onio-Giuditta A. (1996) Characterization of transition sleep episodes in baseline EEG recordings of adult rats. *Physiol. Behav.*, 60: 1435-1439.

Marchiafava PL, Pompeiano O. (1964) Pyramidal influences on spinal cord during desynchronized sleep. *Arch. Ital. Biol.*, 102: 500-529.

Marini G, Mancina M, (1993) Thalamic nuclei and control of the sleep related events. En: Minciacchi D, Molinari M, Macchi G, Jones EG. (Eds.), *Thalamic networks for relay and modulation*. Oxford, Pergamon Press, 401-408.

Mariño J, Martínez L, Canedo A. (1996) Coupled slow and delta oscillations between cuneothalamic and thalamocortical neurons in the chloralose anesthetized cat. *Neurosci Lett.*, 219: 107-110.

Matsumoto J, Jouvet M. (1964) Effets de reserpine, DOPA et 5 HTP sur les deux états sommeil. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 158: 213-214.

Maury A. (1862). *Le sommeil et les rêves*. Didier et Cie. Paris.

McCarley RW, Benoit O, Barrionuevo G. (1983) Lateral geniculate nucleus unitary discharge in sleep and waking: state-and rate-specific aspects. *J. Neurophysiol.*, 50: 798-818.

McCarley RW, Nelson JP, Hobson JA. (1978) Ponto-geniculo-occipital (PGO) burst neurons: Correlative evidence for neuronal generators of PGO waves. *Science*, 201: 269-272.

McCormick DA. (1992) Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamocortical activity. *Prog. Neurobiol.*, 39: 337-388.

McCormick DA, Pape HC. (1990) Properties of a hyperpolarization-activated cation current and its role in rhythmic oscillation in thalamic relay neurones. *J. Physiol. (London)*, 431: 291-318.

- McCormick DA, Wang Z. (1991) Serotonin and noradrenaline excite GABAergic neurons of the guinea-pig and cat nucleus reticularis thalami. *J. Physiol.* (London), 442: 235-255.
- McGinty DJ, Harper RM. (1976) Dorsal raphe neurons: Depression of firing during sleep in cats. *Brain Res.*, 101: 569-575.
- Merchant-Nancy H, Vázquez J, Aguilar-Roblero R, Drucker-Colín R. (1992) C-fosProto-oncogene Changes in Relation to REM Sleep Duration. *Brain Res.* 579: 342-346.
- Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience*, 10: 1185-201.
- Miaura M., Reis DJ. (1972) The role of the solitary and paramedian nuclei in mediating cardiovascular reflex responses from carotid baro-and chemoreceptor. *J. Physiol.*, 223: 525-548.
- Mikiten T, Niebyl P, Hendley C. (1961) EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharges from the thalamus of the cat. *Fed. Proc.*, 20: 327.
- Milner TA, Okada J, Pickel VM. (1995) Monosynaptic input from Leu-Enkephalin-Immunoreactive terminal to vagal motor neurons in the nucleus ambiguus: Comparison with the dorsal motor nucleus of the vagus. *J. Comp. Neurol.*, 353: 391-406.
- Mitani A, Ito K, Hallanger AE, Wainer BH, Katoaka K, McCarley RW. (1988) Cholinergic projections from the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei to pontine gigantocellular tegmental field. *Brain Res.*, 45: 397- 410.
- Mitler MM, Lund R, Sokolove PG, Pittendrigh CS, Dement WC. (1977) Sleep and activity rhythms in mice: a description of circadian patterns and unexpected disruptions in sleep. *Brain Res.*, 131: 129-145.
- Monckton JE, McCormick DA. (2002) Neuromodulatory role of serotonin in the ferret thalamus. *J. Neurophysiol.*, 87: 2124-2136.
- Morris III GL, Mueller WM. (1999) The vagus nerve stimulation study group EO1-EO5. Long-term treatment with vagus nerve stimulation in patients with refractory epilepsy. *Neurology*, 53:1731-1735.
- Morrison AR. (1979) Brain-stem regulation of behavior during sleep and wakefulness. *Prog. Neurobiol. Psychol.*, 8: 91-131.
- Moruzzi G, Magoun HW. (1949) Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1: 455-473.

- Mouret JR, Jeannerod M, Jouvet M. (1963) L'activite électrique du systeme visuel au cours de la phase paradoxale du sommeil chez le chat. *J. Physiol. (Paris)*, 55: 305-306.
- Naritoku DK, Terry WJ, Helfert RH. (1995) Regional induction of fos immunoreactivity in the brain by anticonvulsant stimulation of the vagus nerve. *Epilepsy Res.*, 22: 53-62.
- Nauta WJH. (1946) Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. *J. Neurophysiol.*, 9: 285-316.
- Neuhaus HU, Borbely AA. (1978) Sleep telemetry in the rat. II. Automatic identification and recording of vigilance states. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 44: 115-119.
- Nita DA, Steriade M, Amzica F. (2003) Hyperpolarisation rectification in cat lateral geniculate neurons modulated by intact corticothalamic projections. *J. Physiol.*, 552: 325-332.
- Nitz D, Siegel M. (1997) Gaba release in the locus coeruleus as a function of sleep/wake state. *Neuroscience.*, 78(3): 795-801.
- Nosjean A, Arluison M, Laguzzi RF. (1987) Increase in paradoxical sleep after destruction of serotonergic innervation in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuroscience*, 23: 469-481.
- Núñez A. (1996) Unit activity of rat basal forebrain neurons: relationship to cortical activity. *Neuroscience*, 72: 757-66.
- O'Brien JH, Pimpaneau A, Albe-Fessard D. (1971) Evoked cortical response to vagal, laryngeal, and facial afferents in monkeys under chloralose anesthesia. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 130: 277-300.
- Ogawa Y, Kawamura H. (1988) Increase of multiple unit activity during slow wave sleep in the cat preoptic area. *Brain Res. Bull.*, 20: 897-902.
- Osaka T, Matsumura H. (1994) Noradrenergic inputs to sleep related neurons in the preoptic area from the locus coeruleus and the ventrolateral medulla in the rat. *Neurosci. Res.*, 19: 39-50.
- Padel Y, Dell P. (1965) Effets bulbaires et réticulaires des stimulations endormantes du tronc vago-aortique. *J. Physiol.*, (Paris). 57: 269-270.
- Paintal AS. (1973) Vagal sensory receptors and their reflex effects. *Physiol. Rev.*, 53: 159-227.
- Pal D, Madan V, Mallick BN. (2005) Neural mechanism of rapid eye movement sleep generation: Cessation of locus coeruleus neurons is a necessity. *Sheng Li Xue Bao*, 57: 401-13.

Pedemonte M, Goldstein-Daruech N, Velluti RA. (2003) Temporal correlation between heart rate, medullary units and hippocampal theta rhythm in anesthetized, sleeping and awake guinea pigs. *Auton. Neurosci.*, 107: 99-104.

Pedemonte M, Rodríguez A, Velluti RA. (1999) Hippocampal theta waves as an electrocardiogram rhythm timer in paradoxical sleep. *Neurosci. Lett.*, 276: 5-8.

Peñaloza Rojas JH. (1964) Electroencephalographic synchronization resulting from direct current application to the vagus nerve. *Exp. Neurol.*, 9: 367-361.

Peyron C, Tighe DK, Van Den Pol AN, De Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS. (1998) Neuronal containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J. Neurosci.* 18: 9996-10015.

Pieron H. (1913) *Le probleme physiologique du sommeil*. Paris, Masson, 1-520.

Portas CM, Thakkar M, Rainnie D, McCarley RW. (1996) Microdialysis perfusion of 8-hydroxy-2-(di-N- Propylamino)tetralin (8-OHDPAT) in the dorsal raphe nucleus decreases serotonin release and increases rapid eye movement sleep in the freely moving cat. *J. Neurosci.*, 16: 2820-2828.

Prospero-García O, Jiménez-Anguiano A, Drucker-Colín R (1993) The combination of VIP and atropine induces REM sleep in cats rendered insomniac by PCPA. *Neuropsychopharmacology*, 8: 387-390.

Puizillout JJ, Foutz AS. (1976) Vago-aortic nerves stimulation and REM sleep: Evidence for a REM-triggering and a REM-maintenance factor. *Brain Res.*, 196: 81-184.

Puizillout JJ, Foutz AS. (1977) Characteristics Of the experimental reflex sleep induced by vago-aortic nerve stimulation. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 42: 552-563.

Puizillout JJ, Gaudin-Chazal G, Bras H. (1984) Vagal mechanisms in sleep regulation. *Exp. Brain Res. (suppl)*, 8: 19-38.

Puizillout JJ, Ternaux JP, Foutz AS, Dell P. (1973) Phases de sommeil á ondes lentes avec décharges phasiques. Leur dé clenchement par la stimulation vago-aortique. *Rev Electroencephalogr Neurophysiol Clin.*, 3: 21-37.

Puizillout JJ, Ternaux JP, Foutz AS, Fernandez G. (1974) Les stades de sommeil de la préparation "encéphale isolé". I. Dé clenchement des pointes ponto-géniculo-occipitales et du sommeil phasique á ondes lentes. Rôle des noyaux du raphé. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 37: 561-576.

- Puizillout JJ. (1986) Noyau du faisceau solitaire, serotonine et regulation de la vigilance. *Rev. Electrophysiology. Neurophysiol. Clin.*, 16: 96-106.
- Quattrochi J, Datta S, Hobson JA. (1998) Cholinergic and non-cholinergic afferents of the caudolateral parabrachial nucleus: a role in the long-term enhancement of rapid eye movement sleep. *Neuroscience.*, 83: 1123-1136.
- Quattrochi J, Mamelak AN, Macklis JD, Madison R, Hobson JA. (1989) Mappi neuronal inputs to REM sleep induction sites with carbachol fluorescent microspher. *Science*, 245: 984-986.
- Rechtschaffen A, Kales A. (1968) *A manual of standardized terminology, technique and scoring system for sleep stages of human subjects.* (1st Ed.). Washington, D. C., public health service, U. S. Government Printing Office.
- Reinoso-Barbero F, De Andrés I. (1995) Effects of opioid microinjections in the nucleus of the solitary tract on the sleep wakefulness cycle states in cats. *Anesthesiology*, 82: 144-152.
- Reinoso-Suárez F. (1997) Neurobiología del despertar y la vigilia. *An. R. Acad. Nac. Med.* (Madrid), 114: 249-264.
- Rhoton AL, O'Leary JL, Ferguson JP. (1966) The trigeminal facial vagal, and glossopharyngeal nerves in the monkey. *Arch. Neurol.*, 14: 530-540."
- Ricardo JA, Koh ET. (1978) Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Res.*, 153: 1-26.
- Riou F, Cespuglio R, Jouvet M. (1982a) Endogenous peptides and sleep in the rat I. peptides decreasing paradoxical sleep. *Neuropeptides*, 2: 243-254.
- Riou F, Cespuglio R, Jouvet M. (1982b) Endogenous peptides and sleep in the rat II: Peptides without significant effect on the sleep-waking cycle. *Neuropeptides*, 2: 255-264.
- Riou F, Cespuglio R, Jouvet M. (1982c) Endogenous peptides and sleep in the rat III: the hypnogenic properties of vasoactive intestinal polypeptide. *Neuropeptides*, 11: 265-277.
- Rizzo P, Beelke M, De Carli F, Canovaro P, Nobili L, Robert A, Tanganelli P, Regesta G, Ferrillo F. (2003) Chronic vagus nerve stimulation improves alertness and reduces rapid eye movement sleep in patients affected by refractory epilepsy. *Sleep*, 26: 607-611.
- Rizzo P, Beelke M, De Carli F, Canovaro P, Nobili L, Robert A, Fornaro P, Tanganelli P, Regesta G, Ferrillo F. (2004) Modifications of sleep EEG induced by chronic vagus nerve stimulation in patients affected by refractory epilepsy. *Clin. Neurophysiol.*, 115: 658-664.

Roffwarg HP, Adrian J, Marks GA, Farber J. (1979) Central and peripheral REM sleep activity in the auditory system of the cat. En: Chase MH, Kripke Y, Waltyer PJ. (Eds.), *Sleep Research*, Los Angeles, UCLA., 35-49.

Rogawski MA, Aghajanian GK. (1980) Norepinephrine and serotonin: opposite effects on the activity of lateral geniculate neurons evoked by optic pathway stimulation. *Exp. Biol.*, 69: 678-694.

Rossi GF. (1963) Sleep-inducing mechanisms in the brain stem. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* (Suppl.), 24: 113-132.

Ruckebush Y, Gaujoux M. (1976) Sleep patterns of the laboratory cat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 41: 483-490.

Ruggiero DA, Cravo SL, Golanov EV, Gomez R, Anwar M, Reis DJ. (1994) Adrenergic and non-adrenergic spinal projections of a cardiovascular-active presser area of medulla oblongata: quantitative topographic analysis. *Brain Res.*, 663: 107-120.

Ruigt GS, Van Proosdij JN, Van Delft AM. (1989) A large scale, high resolution, automated system for rat sleep staging. I. Methodology and technical aspects. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 73: 52-63.

Rusak B, Suker I. (1979) Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol. Rev.*, 59: 449-526.

Rutecki P. (1990) Anatomical, Physiological, and theoretical basis for the antiepileptic effect of vagus nerve stimulation. *Epilepsia* (Suppl 2), 31: S1-S6.

Sakai K. (1980) Some anatomical and physiological proprieties of ponto-mesencephalic tegmental neurons with special reference to the PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. En: Hobson JA, Brazier MAB. (Eds.), *The reticular formation revisited*. New York, Raven Press, 427-447.

Sakai K. (1985) Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. En: McGinty D. J Drucker-Colin, R., Morrison, A. y Parmeggiani, P.L.(Eds.). *Brain mechanisms of paradoxical sleep*. New York, Raven Press, 166, 307.

Sakai K. (1986) Central mechanisms of paradoxical sleep. *Brain Res. Dev.*, 8: 413-424.

Sakai K, Crochet S. (2001a) Differentiation of presumed serotonergic dorsal raphe neurons in relation to behavior and wake-sleep states. *Neuroscience.*, 104: 1141-1155.

Sakai K, Crochet S. (2001b) Role of dorsal raphe neurons in paradoxical sleep generation in the cat: no evidence for a serotonergic mechanism. *Eur. J. Neurosci.*, 13: 103-112.

- Sakai K, Crochet S. (2000) Serotonergic dorsal raphe neurons cease firing by disfacilitation during paradoxical sleep. *Neuroreport*, 11: 3237-3241.
- Sakai K, Touret M, Salvert D, Jouvet M. (1977) Afferent projections to the cat locus coeruleus as visualized by the horseradish peroxidase technique. *Brain Res.*, 119: 21-42.
- Sakai K, Vanni-Mercier G, Jouvet M. (1983) Evidence for the presence of PS-OFF neurons in the ventromedial medulla oblongata of freely moving cats. *Exp. Brain Res.*, 49: 311-314.
- Saleh TM, Cechetto DE. (1993) Peptides in the parabrachial nucleus modulate visceral output to the thalamus. *Am. J. Physiol.* 264: R668-R675.
- Sánchez-Vives MV, McCormick DA. (2000) Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex. *Nat. Neurosci.* 3: 1027-1034.
- Sanford LD, Ross RJ, Seggos AE, Morrison AR, Ball WA, Mann GL. (1994) Central administration of two 5-HT receptor agonists: effect on REM sleep initiation and PGO waves. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 49: 93-100.
- Saper CB, Loewy AD. (1980) Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res.*, 197: 291-317.
- Saper CB. (1982) Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. *J Comp Neurol.*, 210: 163-173.
- Sastre JP, Jouvet M. (1979) Le comportement onirique du chat. *Physiol. Behav.*, 22: 279-280.
- Sastre JP, Sakai K, Jouvet M. (1978) Bilateral lesions of the dorsolateral pontine tegmentum II: Effect upon muscle atonia. *Sleep Res.*, 7: 44.
- Sastre JP, Sakai K, Jouvet M. (1981). Are the gigantocellular tegmental field neurons responsible for paradoxical sleep?. *Brain Res.*, 229: 147-161.
- Schachter SC. (2002) Vagus nerve stimulation therapy summary: five years after FDA approval. *Neurology*, (Suppl 4), 59: 15-20.
- Semba K, Fibiger HC. (1992) Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculopontine tegmental nuclei in the rat: a retro- and antero-grade transport and immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.*, 323: 387-410.
- Semba K. (2000) Multiple output pathways of the basal forebrain: organization, chemical heterogeneity, and roles in vigilance. *Behav. Brain Res.*, 115: 117-141.

- Serkov FN, Bratus NV. (1970) Electrical responses of the hippocampus to stimulation of the vagus nerve. En: Rusinov VS. (Ed.), *Electrophysiology of the central nervous system*. New York, Plenum Press, 391-402.
- Sheldon PW, Aghajanian GK. (1990) Serotonin (5-HT) induces IPSPs in pyramidal layer cells of rat piriform cortex: evidence for the involvement of a 5-HT<sub>2</sub>- activated interneuron. *Brain Res.*, 506: 62-69.
- Shihara M, Hori N, Hirooka Y, Eshima K, Akaike N, Takeshita A. (1999) Cholinergic systems in the nucleus of the solitary tract of rats. *Am. J. Physiol.*, 276: 1141-1148.
- Shiromani PJ, Armstrong DM, Berkowitz A, Jeste DV, Gillin JC. (1988) Distribution of choline acetyltransferase immunoreactive somata in the feline brainstem: implications for Rem sleep generation. *Sleep*, 11: 1-16.
- Shiromani PJ, Lai YY, Siegel JM. (1990) Descending projections from the dorsolateral pontine tegmentum to the paramedian reticular nucleus of the caudal medulla in the cat. *Brain Res.*, 28: 224-228.
- Sieck GC, Harper RM. (1980) Pneumotaxic area neural discharge during sleep-waking states in the cat. *Expl. Neurol.*, 67: 79-102.
- Siegel JM, McGinty DJ, Breedlove SM. (1977) Sleep and waking activity of pontine gigantocellular field neurons. *Exp. Neurol.*, 56: 553-573.
- Siegel JM, Tomaszewski KS, Wheeler RL. (1983) Behavioral organization of reticular formation in unrestrained cat. II. Cells related to facial movements. *J. Neurophysiol.*, 50: 717-723.
- Siegel JM, Tomaszewski KS. (1983). Behavioral organization of reticular formation: Studies in the unrestrained cat. I. Cells related to axial, limb, eye and other movements. *J. Neurophysiol.*, 50: 717-723.
- Siegel JM. (1999) Narcolepsy: A key role for hypocretins (orexins). *Cell*, 98: 409-412.
- Siegel JM. (2005) Clues to the functions of mammalian sleep. *Nature*, 437: 1264-1271.
- Sillito AM, Jones HE, Gerstein GL, West DC. (1994) Feature-linked synchronization of thalamic relay cell firing induced by feedback from the visual cortex. *Nature*, 369: 479-482.
- Simon NR, Manshanden I, Lopes da Silva FH. (2000) A MEG study of sleep. *Brain Res.*, 860: 64-76.
- Simón-Arceo K, Ramírez-Salado I, 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.

Snider RS, Niemer WT. (1961) *A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain*. Chicago II: University of Chicago Press.

Soltész I, Lightowler S, Leresche N, Jassik-Gerschenfeld D, Pollard CE, Crunelli V. (1991) Two inward currents and the transformation of low frequency oscillations of rat and cat thalamocortical cells. *J. Physiol.* (London), 441: 175-198.

Steininger TL, Wainer BH, Blakely RD, Rye DB. (1997) Serotonergic dorsal raphe nucleus projections to the cholinergic and noncholinergic neurons of the pedunclopontine tegmental region: a light and electron microscopic anterograde tracing and immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.*, 382: 302-322.

Steriade M. (1997) Synchronized activities of coupled oscillators in the cerebral cortex and thalamus at different levels of vigilance. *Cereb. Cortex*, 7: 583-604.

Steriade M, Contreras D, Amzica F, Timofeev I. (1996) Synchronization of fast (30-40 Hz) spontaneous oscillations in intrathalamic and thalamocortical networks. *J. Neurosci.* 16: 2788-2808.

Steriade M, Contreras D, Dossi RC, Núñez A. (1993c) 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, Curró Dossi R, Paré D, Oakson G. (1991b) Fast oscillations (20-40 Hz) in thalamocortical systems and their potentiation by mesopontine cholinergic nuclei in the cat. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88: 4396-4400.

Steriade M, Curró-Dossi R, Núñez A. (1991a) Network modulation of a slow intrinsic oscillation of cat thalamocortical neurons implicated in sleep delta waves: Cortically induced synchronization and brainstem cholinergic suppression. *J. Neurosci.*, 11: 3200-3217.

Steriade M, Datta S, Pare D, Oakson G, Curro DR. (1990) Neuronal activities in brain-stem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. *J. Neurosci.*, 10: 2541-2559.

Steriade M, Deschenes M. (1984) The thalamus as a neuronal oscillator. *Brain. Res. Rev.*, 8: 1-63.

Steriade M, Deschenes M. (1988) Intrathalamic and brainstem-thalamic networks involved in resting and alert states. En: Bentivoglio M, Spreafico R. (Eds.), *Cellular thalamic mechanisms*.

New York, Elsevier, 37-62.

Steriade M, Deschenes M, Domich L, Mulle C. (1985) Abolition of spindle oscillations in thalamic neurons disconnected from nucleus reticularis thalami. *J. Neurophysiol.*, 54: 1473-1497.

Steriade M, Domich L, Oakson G, Deschénes M. (1987) The deafferented reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. *J. Neurophysiol.*, 57: 260-273

Steriade M, Hobson JA. (1976) Neuronal activity of the sleep-waking cycle. *Prog. Neurobiol.*, 6: 155-316.

Steriade M, McCarley RW. (1990) *Brainstem control of wakefulness and sleep*. Plenum Press, New York.

Steriade M, Núñez A, Amzica F. (1993a) A novel slow (< 1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo-depolarizing and hyperpolarizing components. *J. Neurosci.* 13: 3252-3265.

Steriade M, Núñez A, Amzica F. (1993b) Intracellular analysis of relations between the slow (< 1 Hz) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *J. Neurosci.*, 13: 3266-3283.

Steriade M, Sakai K, Jouvet M. (1984) Bulbo-thalamic neurons related to thalamocortical activation processes during paradoxical sleep. *Exp. Brain. Res.*, 54: 363-375.

Steriade M, Timofeev I. (2003) Neuronal plasticity in thalamocortical networks during sleep and waking oscillations. *Neuron*, 37:563-576.

Steriade M, Timofeev I, Grenier F. (2001) Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J. Neurosci.*, 85: 1969-1985.

Sterman MB, Knauss T, Lehmann D, Clemente CD. (1965) Circadian sleep and waking patterns in the laboratory cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 19: 509-517.

Sykes RM, Spyer KM, Izzo PN. (1994) Central distribution of substance P, calcitonin gene-related peptide and 5-hydroxytryptamine in vagal sensory afferents in the rat dorsal medulla, *Neuroscience*, 59: 195-210.

Szymusiak R, McGinty D. (1986) Sleep-related neuronal discharge in the basal forebrain of cats. *Brain Res.*, 370: 82-92.

Takakusaki K, Shimoda N, Matsuyama K, Mori S. (1994) Discharge properties of medullary reticulospinal neurons during postural changes induced by intrapontine injections of carbachol, atropine and serotonin, and their functional linkages to hindlimb motoneurons in cats. *Exp. Brain*

*Res.* 99: 361-374.

Takakusaki K, Shiroyama T, Yamamoto T, Kitai ST. (1996) Cholinergic and non-cholinergic tegmental pedunculo-pontine projection neurons in rats revealed by intracellular labeling. *J. Comp. Neurol.* 371: 345-361.

Takeuchi Y, Matsushima S, Matsushima R, Hopkins D. (1983) Direct amigdaloid projections to the dorsal motor nucleus of the vagus nerve: a light electron microscopic study in the rat. *Brain Res.*, 280: 143-147.

Ter Horst GJ y Streefland (1994) Ascending projections of the solitary tract Nucleus. En: Barraco IR. (Ed.), *Nucleus of the solitary tract*. Boca Raton FL., CRC press, 93-103.

Terry R, Tarver WB, Zabara J. (1992) An implantable neurocybernetic prosthesis system. *Epilepsia*, (Suppl 2), 31: S44-S50.

Thakkar M, Portas C, McCarley RW (1996) Chronic low-amplitude electrical stimulation of the laterodorsal tegmental nucleus of freely moving cats increases REM sleep. *Brain Res.*, 723: 223-227.

Thakkar MM, Strecker RE, McCarley RW. (1998) Behavioral state control through differential serotonergic inhibition in the mesopontine cholinergic nuclei: A simultaneous unit recording and microdialysis study. *J. Neurosci.*, 18: 5490-5497.

Thallickal TC, Moore RY, Nienhuis R, Ramanathan L, Gulyani S, Aldrich M, Cornford M, Siegel JM. (2000) Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron*, 27: 469-474.

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

Thompson RF, Spencer WA. (1966) Habituation: a model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychol. Rev.*, 73: 16-43.

Timofeev I, Steriade M. (1996) Low-frequency rhythms in the thalamus of intact-cortex and decorticated cats. *J. Neurophysiol.*, 76: 4152-4168.

Tobler I. (1995) Is sleep fundamentally different between mammalian species? *Behav. Brain Res.*, 69: 35-41.

Tobler I, Franken P, Scherschlicht R. (1990) Sleep and EEG spectra in the rabbit under baseline conditions and following sleep deprivation. *Physiol. Behav.*, 48:121-129.

- Tobler I, Jaggi K. (1987) Sleep and EEG spectra in the syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) under baseline conditions and following sleep deprivation. *J. Comp. Physiol.*, 161: 449-459.
- Traube J. (1847) *Zur physiologie des n. Vagus. Medizin. Zeitung des Vereins fur Heilkunde Nr. 5.*
- Upton RMA, Tougas G, Talalla A, White A, Hudoba P, Fitzpatrick D, Clarke B, Hunt R. (1991) Neurophysiological effects on left vagal stimulation in man. *PACE*, 14: 70-76.
- Ursin R, Sterman MB. (1981) *A manual for standardized scoring of sleep and waking states in the adult cat.* Los Angeles, University of California Press.
- Ursin R. (1968) The two stages of slow wave sleep in the cat and their relation to REM sleep. *Brain Res.*, 11: 347-356.
- Uthman BM, Wilder BJ, Penry JK, Dean C, Ramsay RE, Reid SA, Hammond EJ, Tarver WB, Wernicke JF. (1993) Treatment of epilepsy by stimulation of the vagus nerve. *Neurology*, 43: 1338-1345.
- Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrigal VM, Martínez-Cervantes A, Fernández-Mas R, Fernández-Guardiola A. (1997) Distribución temporal de las fases del ciclo sueño-vigilia en el gato: registros de 23 horas en condiciones de luz-oscuridad y oscuridad-luz. *Salud Mental*, 20 (sup1), 32-39.
- Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrigal VM, Martínez-Vargas D, Fernández-Mas R, Almazán-Alvarado S, Martínez A, Fernández-Guardiola A. (2002) Chronic stimulation of the vagus nerve in cats: effect on sleep and behavior. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.*, 26: 113-118.
- Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrigal VM, Martínez-Vargas D, Fernández-Mas R, Almazán-Alvarado S, Fernández-Guardiola A. (2005) Effect of vagal nerve electrical stimulation on EEG activity and on stages of sleep-wakefulness cycle in the cat. *Enviado para su publicación a J. Sleep Res.*
- Vanderwolf CH. (1969) Hippocampal electric activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 26: 407-418.
- Vanni-Mercier G, Sakai K, Jouvet M. (1991) Carbachol microinjections in the mediodorsal pontine tegmentum are unable to induce paradoxical sleep after caudal pontine and prebulbar transections in the cat. *Neurosci. Lett.*, 130: 41-45.
- Vanni-Mercier G, Sakai K, Lin JS, Jouvet M. (1989) Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch. Ital. Biol.*, 127:

133-164.

Vertes RP. (1977) Selective firing of rat pontine gigantocellular neurons during movement and REM sleep. *Brain Res.*, 128: 146-152.

Vigier D, Portalier P. (1979) Efferent projections of the area postrema demonstrated by autoradiography. *Arch. Ital. Biol.* 117: 308-324.

Vigier D, Rouvier A. (1979) Afferent and efferent connections of the area postrema demonstrated by the horseradish peroxidase method. *Arch. Ital. Biol.* 117: 325-348.

Villablanca J. (1974) Role of the thalamus in the sleep control: sleep wakefulness studies in chronic diencephalic and athalamic cats. En: Petre-Quadens O, Schlang L. (Eds), *Basic sleep mechanism*. New York, Academic Press, 51-81.

Villar MJ. (1994) Nuevos conceptos sobre la histoquímica de los sistemas neurales serotoninérgicos del rafe. *Acta. Psiquiatr. Psicol. Am. Lat.*, 40: 293-300.

Vivaldi E, McCarley RW, Hobson JA. (1980) Evocation of desynchronized sleep signs by chemical microstimulation of the pontine brainstem. En: Hobson JA, Brazier MAB. (Eds.), *The reticular Formation Revisited*. New York, Raven Press, 513-529.

Volkman AW. (1838) Von dem baue und den Verrichtungen der kopfnerven des frosches. *Arch. Anat. Physiol. Lpz.*, 5: 69-70.

Wang XJ, Rinzel J. (1993) Spindle rhythmicity in the reticularis thalami nucleus: synchronization among mutually inhibitory neurons. *Neuroscience*, 53: 899-904.

Weber EF, Weber EH. (1845) Experimenta quibus probatus nervos vagos rotatione machinae galvanomagneticae irritatus, martum cordis retardare et ad eum intercipere. *Ann. Univ. Med.*, 116: 227-233.

Webster HH, Jones BE. (1988) Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Res.*, 458: 285-302.

Wehrle R, Czisch M, Kaufmann C, Wetter TC, Holsboer F, Auer DP, Pollmacher T. (2005) Rapid eye movement-related brain activation in human sleep: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroreport*. 16: 853-857.

Wilder BJ, Uthman BM, Hammond EJ. (1991) Vagal stimulation for control of complex partial seizures in medically refractory epileptic patients. *PACE*, 14: 108-115.

- Woodbury DM, Woodbury JW. (1990) Effects of vagal stimulation on experimentally induced seizures in rats. *Epilepsia*, (Suppl 2), 31: S2-S7.
- Xi M, Morales FR, Chase MH. (1999) A GABAergic pontine reticular system is involved in the control of wakefulness and sleep. *Sleep Res On Line.*, 2: 43-48.
- Xi MC, Morales FR, Chase MH. (2004) Interactions between GABAergic and cholinergic processes in the nucleus pontis oralis: neuronal mechanisms controlling active (rapid eye movement) sleep and wakefulness. *J. Neurosci.*, 24: 10670-10678.
- Yamamoto K, Mamelak AN, Quattrochi J, Hobson JA. (1990a) A cholinceptive 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.
- Yamuy J, Mancillias JR, Morales FR, Chase MH. (1993) C-Fos expression in the pons and medulla of the cat during carbachol-induced active sleep. *J. Neurosci.* 13: 2703-2718.
- Zanchetti A, Wang SC, Moruzzi G. (1952). The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 4: 357-361.
- Zhang JH, Sampogna S, Morales FR, Chase MH. (2004) Distribution of hypocretin (orexin) immunoreactivity in the feline pons and medulla. *Brain Res.*, 995: 205-217.
- Zhuo H, Ichikawa H, Helke CJ. (1997) Neurochemistry of the nodose ganglion. *Prog. Neurobiol.* 52 : 79-107

## Chronic stimulation of the cat vagus nerve Effect on sleep and behavior

Alejandro Valdés-Cruz<sup>a,\*</sup>, Victor M. Magdaleno-Madrigal<sup>a</sup>, David Martínez-Vargas<sup>a</sup>,  
Rodrigo Fernández-Mas<sup>a</sup>, Salvador Almazán-Alvarado<sup>a</sup>, Adrian Martínez,  
Augusto Fernández-Guardiola<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Neuroscience Research Division, Instituto Nacional de Psiquiatría SSA, Calz. México-Xochimilco 101, Mexico D.F. 14370, Mexico

<sup>b</sup>Psychology Faculty, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico D.F., Mexico

### Abstract

The effect of electrical vagus nerve stimulation (VNS) on sleep and behavior was analyzed in freely moving cats. Eight cats were prepared for 23-h sleep recordings. The left vagus nerve of four of them was stimulated during 1 min, five times at 1-h intervals, for 5 days. The VNS induces: ipsilateral myosis, blinking, licking, abdominal contractions, upward gaze, swallowing, and eventually yawning and compulsive eating, as well as an increase of ponto-geniculate–occipital (PGO) wave density and of the number of stages and total amount of rapid eye movement (REM) sleep. Besides, there was a sudden transition from waking stage to REM sleep. The present results suggest that VNS modifies sleep in the cat. This effect could be explained by an activation of the areas involved in the physiological mechanisms of sleep. © 2001 Elsevier Science Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Sleep; Solitary tract nucleus; Vagus nerve stimulation

### 1. Introduction

One of the effects detected in the early experimental models of electrical vagal stimulation was sleep induction (Koch, 1932; Dell and Olson, 1951). Grastyan et al. (1952) were the first to describe the occasional appearance of sleep spindles during vagus nerve stimulation (VNS). Padel and Dell (1965), using *encéphale isolé* preparations obtained what they called “aortic vagus” response, characterized by immediate myosis, followed by cortical synchronization, maintained after VNS.

Further on, Puizillout and Foutz (1977) found that VNS produces complete cycles of all sleep stages, and increases slow wave sleep preceded by rapid eye movement (REM) sleep. In addition, it promotes the sudden transition from

waking stage to REM sleep in sleep-deprived cats. Moreover, an enhanced frequency of REM sleep episodes was found, suggesting that VNS may be a triggering factor of this sleep stage (Puizillout, 1976).

However, depending on the vagal stimulation parameters used in experimental animal models, either electrographic synchronization or desynchronization, can be produced. In pioneer works in cats, VNS at frequencies of 24 to 50 Hz produced rapid activity of the orbito-frontal cortex (Bremer and Bonnet, 1951). In subsequent works using *encéphale isolé* preparations in cats, VNS (50 Hz from 0.1 to 2 V intensity) produced cortical desynchronization and inhibition of sleep spindles (Zanchetti et al., 1952). On the other hand, Peñaloza-Rojas (1964) stimulating the vagus nerve with direct current found electrographic synchronization.

Chase and Nakamura (1968) and Chase et al. (1966, 1967) reported that VNS-induced electrographic changes are associated with the activation of different types of nerve fibers; frequencies of 70 Hz and over 3 V produce electroencephalogram (EEG) desynchronization. Using the same frequency but with lower intensities, synchronization is induced, suggesting that this effect results from stimulation of only myelinated fibers. Stimulation intensities

*Abbreviations:* BL, baseline; EEG, electroencephalogram; LGB, lateral geniculate body; NTS, nucleus of the solitary tract; PBL, parabrachial region; PGO, ponto-geniculate–occipital; REM, rapid eye movement sleep; TAM, temporal lobe amygdala; VNS, vagus nerve stimulation

\* Corresponding author.

E-mail address: alevalc@imp.edu.mx (A. Valdés-Cruz).

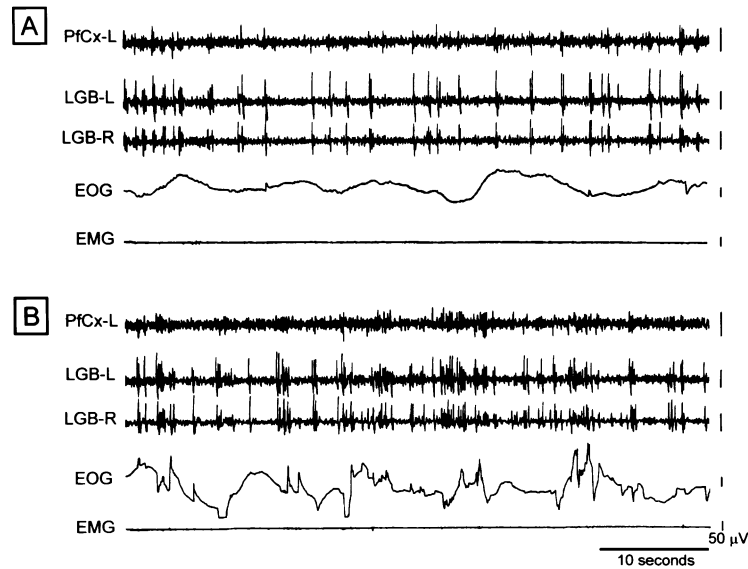


Fig. 1. Recording of REM sleep of the same cat in BL (A) and after VNS (B). Note the greater number of PGO waves (high-voltage potential recording in both LGBs) in the vagal stimulation recording. Pfcx-L (left prefrontal cortex), LGB-L and -R (left and right LGB), EOG (electrooculogram), EMG (electromyogram).

and frequencies that induce desynchronization are those capable of stimulating the fibers that conduct from 1 to 15 m/s (Chase and Nakamura, 1968).

The nucleus of the solitary tract (NTS) receiving the majority of vagus nerve afferences has been involved in sleep–wakefulness cycle mechanisms. Vigier and Portalier (1979) described projections of the area postrema to the NTS and the locus coeruleus. Besides, afferents and efferents have been described from these nuclei to the dorsal motor nucleus of the vagus nerve (Vigier and Rouvière, 1979).

Recently, the effect of VNS on the experimental model of epilepsy named “kindling” in the cat was reported, and some changes in the sleep–wakefulness cycle produced by VNS were described (Fernández-Guardiola et al., 1998, 1999). Nevertheless, there are no studies in which the VNS effect on the sleep–wakefulness cycle of freely moving cats has been analyzed. Thus, the purpose of the present study is to report the changes on the

different sleep stages, as well as on the behavior induced by chronic VNS.

**2. Methods**

*2.1. Animals*

Eight adult male cats, weighing between 3800 and 4500 g, were used.

*2.2. Surgical procedure*

Surgery was performed under intravenous sodium pentobarbital anesthesia (33 mg/kg). Four animals were stereotactically implanted with stainless steel bipolar electrodes in both temporal lobe amygdalae (TAM) and both lateral geniculate bodies of the thalamus (LGB) (Snider and Niemer, 1961). In addition, two epidural electrodes were

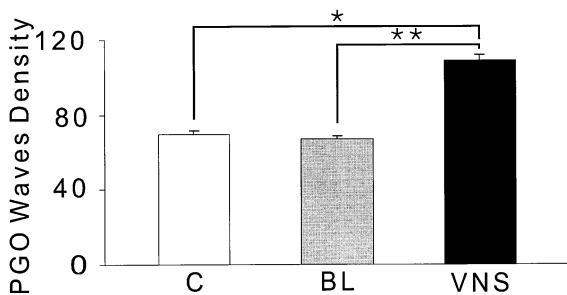


Fig. 2. PGO wave density (number of waves per minute) (mean ± S.D.). Note the significant increase in animals with VNS compared to controls (C) (\**P* < .01, Mann–Whitney *U* test) and BL (\*\**P* < .05, Wilcoxon *t* test).

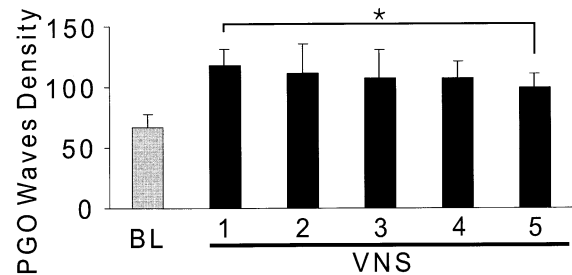


Fig. 3. PGO wave density in BL and VNS (mean ± S.D.). The numbers at the X-axis indicated the VNS day. Note a significant increase with VNS since the first day (\**P* < .05, Wilcoxon *t* test). Abbreviations as in Fig. 2.



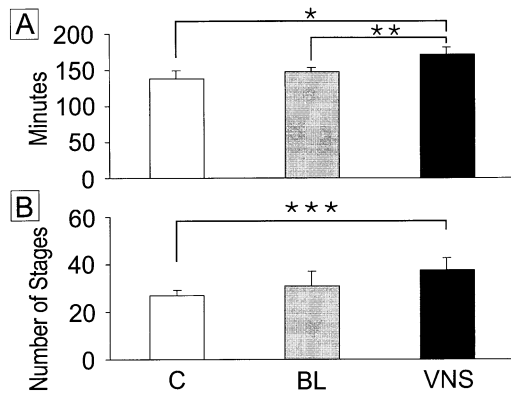


Fig. 4. Average of total time in minutes (A) and number of stages (B) of REM sleep in 23-h recordings of all cats. Note in Panel (A) a significant increase with VNS compared to C ( $*P < .01$ , Mann–Whitney  $U$  test) and BL ( $**P < .05$ , Wilcoxon  $t$  test). In Panel (B), note a significant increase with VNS compared to C ( $***P < .05$ , Mann–Whitney  $U$  test). Abbreviations as in Fig. 2.

placed in both prefrontal bones for EEG recordings. Nail-shaped electrodes were implanted in the supraorbital cavity for electrooculogram recordings. The electromyogram was recorded using flexible electrodes inserted into the nape muscles. The left vagus nerve was dissected in the neck, caudal to the larynx, and it was implanted with a bipolar stainless steel fork-shaped electrode. All electrodes were welded to a DB-25 connector and fixed to the skull with dental acrylic. The four control cats were prepared as above with the exception of the vagus nerve implantation. After surgery, the animals were placed in soundproof boxes ( $1.20 \times 0.80 \times 0.80$  m) with water and food ad libitum and left to recover and acclimatize for 15 days. During this time they were exposed to a light–dark period of 12:12 h (8:00 a.m.–8:00 p.m. light; 8:00 p.m.–8:00 a.m. dark). Every day 1 h was taken to clean and feed the animals (from 7:00 to 8:00 a.m.).

### 2.3. Vagus nerve stimulation

The VNS threshold was determined considering polygraphic and behavioral signs previously described (Fernández-Guardiola et al., 1998, 1999): the appearance of evoked potentials in LGB by ocular movements; swallowing, licking, and vomit reflex. Furthermore, the behavioral responses induced by VNS were videotaped. Once the threshold had been reached, VNS was applied daily, for 1 min at 1-h intervals five times per day (from 10:00 a.m. to 2:00 p.m.) for 5 days.

### 2.4. Recordings

The control cats were recorded during 5 days. In the experimental cats, baseline (BL) recordings were obtained during 5 days before VNS. All sleep–wakefulness recordings of the three conditions lasted 23 h (from 8:00 a.m. to

7:00 a.m. of the following day). Sleep stages were evaluated (Ursin and Sterman, 1981). One polysomnograph was obtained for each recording. The number of stages and total time of each stage of the sleep–waking cycle during the 23-h recording were analyzed. Polysomnographs and numerical values of each variable were obtained with a computer program (Win-sleep) designed at our laboratory for sleep analysis (Fernández-Guardiola et al., 1995; Valdés-Cruz et al., 1997). In addition, the total number and density of ponto-geniculo–occipital (PGO) waves of REM sleep were quantified.

### 2.5. Statistical analysis

Numerical data were statistically analyzed with the Mann–Whitney  $U$  test for range comparison of two independent groups and the Wilcoxon  $t$  test for related groups.

## 3. Results

The VNS intensity ranged from 1.2 to 3.0 mA (30 Hz and 0.5-ms pulses).

### 3.1. Behavioral effects

VNS induced the following behavioral responses: ipsilateral myosis, blinking, REMs in bursts, licking, abdominal contractions, upward gaze, brief and sudden immobilization, swallowing, and eventually yawning as well as compulsive eating. All behaviors appear during stimulation.

### 3.2. Effects on sleep

During and after VNS, evoked potentials induced by ocular movements in both LGB were conspicuously increased. The density of PGO waves during REM sleep showed a significant increase with VNS compared qualita-

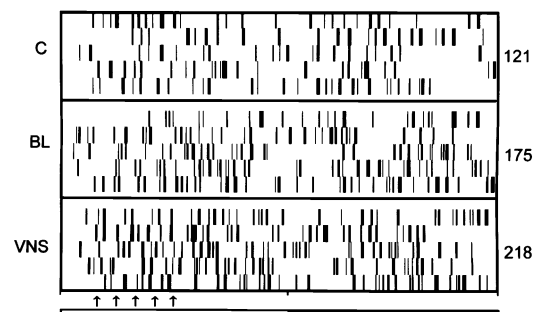


Fig. 5. REM sleep stage distribution in five 23-h recordings in C, BL, and VNS. Vertical black bars represent the occurrence of the stages (the numerical values on right side indicated the total number of each condition), each line of bars stand for day of recording; arrows show VNS application; horizontal bars indicate light and dark periods. Note the greater number of stages in VNS cats.

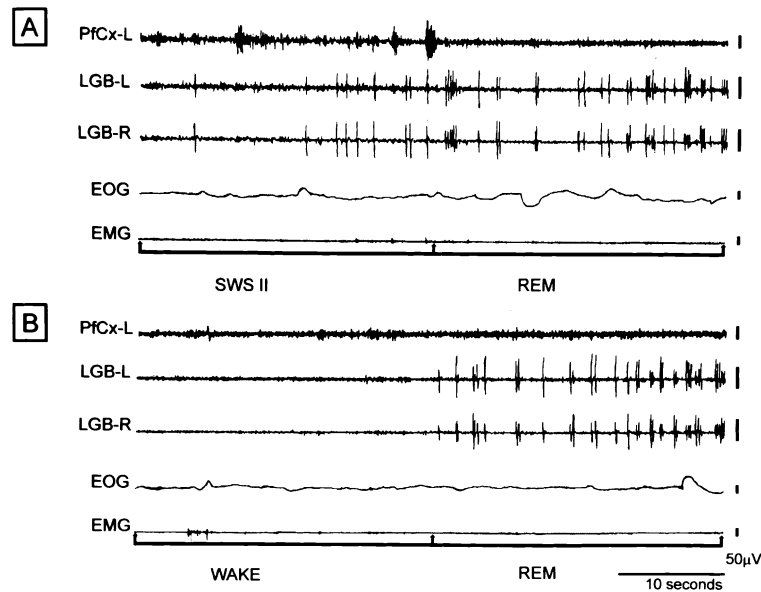


Fig. 6. Polysomnographic recording of one cat. (A) Transition from slow wave sleep to REM sleep. (B) Narcoleptic reflex: sudden transition from waking stage to REM sleep in the same cat, 8 h after the last vagal stimulation. Left prefrontal cortex (PFCx-L), left and right LGB (LGB-L, LGB-R, respectively), electrooculogram (EOG) and electromyogram (EMG).

tively to BL (Fig. 1) and statistically different to controls (Fig. 2). Moreover, an increase of PGO wave density was observed since the first VNS day compared to BL (Fig. 3). Also, an increase in the total time and number of stages of REM sleep was observed in cats with VNS (Fig. 4).

The qualitative analysis of the temporal distribution of REM sleep stages showed an increment in the number of appearances of this stage during the 23 h, with a deviation towards the periods of vagal stimulation (Fig. 5).

On the other hand, evaluation of the obtained recordings revealed sudden transitions from waking stage to REM sleep in VNS-conditioned cats (Fig. 6). It was observed in all VNS cats, but it did not occur in all VNS days (Table 1).

#### 4. Discussion

Our results complement the previous findings about VNS sleep studies, in which the animals were under anesthesia or *encéphale isolé* preparation. Thus, we recorded the EEG during 23 h in freely moving cats, and observed sleep

changes outside VNS periods as well as the behavior while VNS was performed.

##### 4.1. Behavioral effects

Abdominal contractions and compulsive eating could be induced by efferent parasympathetic projections of the vagus nerve towards the esophagus, stomach, and gut (Brodal, 1981; Foley and DuBois, 1937; Woodbury and Woodbury, 1990). Swallowing and licking are behaviors produced by the activation of the ambiguous nucleus, which controls the phonation and swallowing muscles (Carpenter and Pines, 1957). The vomit reflex is a result of the activation of the area postrema through the NTS (Vigier and Portalier, 1979).

Ipsilateral myosis, blinking, ocular movements in bursts, and upward gaze are induced by the activation of the oculomotor nucleus and the Edinger–Westphal nucleus, through central afferent projections of the NTS (Anden, 1966).

##### 4.2. Effect on sleep

The effect of VNS on REM sleep could be due to the central afferent projections of the vagus nerve. These originate in the nodose ganglion and most fibers are directed towards the NTS (Crill and Reis, 1968; Miaura and Reis, 1972; Rhoton et al., 1966). The role of the NTS in sleep seems to be diverse. In cats, different groups of neurons have been observed to display changes in their triggering pattern depending on the animal's sleep stage (Magnes et al., 1961; Eguchi and Satoh, 1980).

Table 1  
Number of sudden transitions from waking to REM sleep

	VNS day				
	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
Cat 23	0	0	2	2	2
Cat 24	0	1	2	2	1
Cat 26	0	0	0	2	1
Cat 27	0	1	1	2	3

The importance of endogenous opioids of the NTS on slow wave sleep has been marked (Reinoso-Barbero and De Andrés, 1995). In addition, the NTS has cholinergic and excitatory amino acid projections (Shihara et al., 1999) toward structures involved in different mechanisms of REM sleep such as the PBL (Granata and Kitai, 1989), the TAM (Duan et al., 1994; Takeuchi et al., 1983; Halsell, 1998), the locus coeruleus alpha and subcoeruleus (Sakai et al., 1977). In addition, it has been proposed that the NTS could play a role in REM sleep by way of its serotonergic projections towards the PBL (Laguzzi et al., 1984; Puizillout, 1986; Nosjean et al., 1987; Danguir et al., 1988). Also, the NTS presents an increase in *C-fos* in animals with REM sleep increased by auditory stimulation (Merchant-Nancy et al., 1992).

The importance of PBL and locus coeruleus during the tonic and phasic events of REM sleep has been well documented (Jouvet, 1972; Sakai, 1985). A lasting induction of REM sleep has been attained by direct cholinergic stimulation of both PBL and TAM (Calvo et al., 1992, 1996), with persistent increase of PGO potentials in both cases. The rise in density of these potentials in the present experiments could be due to the cholinergic activation favored by VNS in these areas through the NTS.

On the other hand, it should be noted that sudden transitions from wakefulness to REM sleep (narcoleptic reflex) were described before in cats with VNS in *encéphale isolé* preparations and in sleep-deprived cats (Puizillout, 1976). In our present work, freely moving cats with no anesthesia and VNS present a narcoleptic reflex despite exhibiting increased REM sleep.

Some afferent fibers to the NTS with high density of orexin immunoreactivity may be of importance for the narcoleptic reflex, as orexins (hypocretins) play a key role in narcolepsy (Peyron et al., 1998; Siegel, 1991; Thallickal et al., 2000).

## 5. Conclusion

We conclude that VNS influences REM sleep through vagal afferences related with areas that play a role in this sleep stage. The relevance of 23-h recordings must be emphasized, since long-term changes were observed that were reflected on PGO wave increase, total REM sleep time, and sudden transitions from waking stage to REM sleep.

## Acknowledgments

This research was partially supported by CONACYT 31771N, DGPA IN 231999, and PUIS 2035-049-15-II-90, UNAM. We thank Psic. Jocelyn Zúñiga, Alejandro Rubio, and Alfredo Martínez for their technical assistance; Raúl Cardozo and José Luis Calderón for the preparation of the

illustrations; Isabel Pérez Monfort for manuscript translation; and Luisa Rocha for revision of the final manuscript.

## References

- Anden, N.E., 1966. Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. *Acta Physiol. Scand.* 67, 313–326.
- Bremer, F., Bonnet, V., 1951. Convergence et interaction des influx afferents dans l'écorce cérébelleuse principe fonctionnel du cervelet. *J. Physiol. (Paris)* 43, 665–667.
- Brodal, P., 1981. *The Central Nervous System*, second ed. Oxford Univ. Press, New York, p. 442.
- Calvo, J.M., Datta, S., Quattrochi, J., Hobson, J.A., 1992. Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the cat: II. Delayed and prolonged increases in REM sleep. *Arch. Ital. Biol.* 130, 285–301.
- Calvo, J.M., Simón-Arceo, K., Fernández-Mas, R., 1996. Prolonged enhancement of REM sleep produced by carbachol microinjection into the amygdala. *NeuroReport* 7, 577–580.
- Carpenter, M.B., Pines, J., 1957. The Rubro–Bulbar: anatomical relationships course and terminations in the rhesus monkey. *Anat. Rec.* 128, 171–185.
- Chase, M.H., Nakamura, Y., 1968. Cortical and subcortical EEG patterns of response to afferent abdominal vagal stimulation: neurographic correlates. *Physiol. Behav.* 3, 605–610.
- Chase, M.H., Sterman, M.B., Clemente, C.D., 1966. Cortical and subcortical patterns of response to afferent vagal stimulation. *Exp. Neurol.* 16, 36–49.
- Chase, M.H., Nakamura, Y., Clemente, C., 1967. Afferent vagal stimulation: neurographic correlates of induce EEG synchronization and desynchronization. *Brain Res.* 5, 236–249.
- Crill, W.E., Reis, D.J., 1968. Distribution of carotid sinus and depressor nerves in brain stem. *Am. J. Physiol.* 214, 269–276.
- Danguir, J., De Saint, H., Kafī, S., 1988. Somatostatin antiserum blocks carbachol-induced increase of paradoxical sleep in the rat. *Brain Res. Bull.* 20, 9–12.
- Dell, P., Olson, P., 1951. Projections secondaires mesencephaliques, encéphaliques et amygdaliennes des afferences viscérales vagues. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 145, 1088–1091.
- Duan, Y.F., Winters, R., McCabe, P.M., Green, E.J., Huang, Y., Schneiderman, N., 1994. Modulation of neuronal firing in the medullary solitary complex by electrical stimulation of the hypothalamic defense and vigilance areas in rabbits. *Brain Res.* 643, 218–226.
- Eguchi, K., Satoh, T., 1980. Characterization of the neurons in the region of the solitary tract nucleus during sleep. *Physiol. Behav.* 24, 99–102.
- Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., Fernández-Mas, R., 1995. Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23-h recording), and brain mapping study. *Epilepsy Res.* 22, 127–136.
- Fernández-Guardiola, A., Martínez-Cervantes, A., Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V.M., Fernández-Mas, R., 1998. Left vagus nerve stimulation: effects on circadian sleep organization and kindling development in the cat. In: Corcoran, M., Moshe, S. (Eds.), *Kindling* 5. Plenum, New York, pp. 495–499.
- Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V.M., Martínez, D., Fernández-Mas, R., 1999. Vagus nerve chronic stimulation in cats: effects on epileptogenesis (amygdala electrical kindling): behavioral and electrographic changes. *Epilepsia* 40, 822–829.
- Foley, J.O., DuBois, F., 1937. Quantitative studies of the vagus nerve in the cat: I. The ratio of sensorial fibers. *J. Comp. Neurol.* 67, 49–97.
- Granata, A.R., Kitai, S.T., 1989. Intracellular study of nucleus parabrachialis and nucleus tractus solitarii interconnections. *Brain Res.* 492, 281–292.
- Grastyan, E., Hasznos, T., Lissak, K., Molvar, L., Ruzsonyi, Z., 1952. Activation of the brain stem activating system by vegetative afferents. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 3, 102–122.

- Halsell, C.B., 1998. Differential distribution of amygdaloid input across rostral solitary nucleus subdivisions in rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 30, 482–485.
- Jouvet, M., 1972. The role of monoamines and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep–waking cycle. In: Jouvet, M., Moruzzi, G. (Eds.), *Neurophysiology and Neurochemistry of Sleep and Wakefulness*. Heidelberg, New York, pp. 166–307.
- Koch, E., 1932. Die Irradiatio Der Pressoreptorischen Krieslaufe flexe. *Klin. Wochenschr.* 11, 225–227.
- Laguzzi, R., Ries, D.J., Talman, W.T., 1984. Modulation of cardiovascular and electrocortical activity through serotonergic mechanisms in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res.* 304, 321–328.
- Magnes, J., Moruzzi, G., Pompeiano, O., 1961. Synchronization of the EEG produced by low frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. *Arch. Ital. Biol.* 99, 33–61.
- Merchant-Nancy, H., Vázquez, J., Aguilar-Roblero, R., Drucker-Colín, R., 1992. C-fos proto-oncogene changes in relation to REM sleep duration. *Brain Res.* 579, 342–346.
- Miaura, M., Reis, D.J., 1972. The role of the solitary and paramedian nuclei in mediating cardiovascular reflex responses from carotid baro- and chemoreceptor. *J. Physiol.* 223, 525–548.
- Nosjean, A., Arluison, M., Laguzzi, R.F., 1987. Increase in paradoxical sleep after destruction of serotonergic innervation in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuroscience* 23, 469–481.
- Padel, Y., Dell, P., 1965. Effets bulbaires et réticulaires des stimulations endormantes du tronc vago-aortique. *J. Physiol. (Paris)* 57, 269–270.
- Peñaloza-Rojas, J.H., 1964. Electroencephalographic synchronization resulting from direct current application to the vagus nerve. *Exp. Neurol.* 9, 361–367.
- Peyron, C., Tighe, D.K., Van Den Pol, A.N., De Lecea, L., Heller, H.C., Sutcliffe, J.G., Kilduff, T.S., 1998. Neuronal containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J. Neurosci.* 18, 9996–10015.
- Puizillout, J., 1976. Vago-aortic nerves stimulation and REM sleep: evidence for a REM-triggering and a REM-maintenance factor. *Brain Res.* 196, 81–184.
- Puizillout, J., 1986. Noyau du fasciculus solitaire, serotonine et regulation de la vigilance. *Rev. Electroencephalogr. Neurophysiol. Clin.* 16, 105–106.
- Puizillout, J., Foutz, A.S., 1977. Characteristics of the experimental reflex sleep induced by vago-aortic nerve stimulation. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 42, 552–563.
- Reinoso-Barbero, F., De Andrés, I., 1995. Effects of opioid microinjections in the nucleus of the solitary tract on the sleep wakefulness cycle states in cats. *Anesthesiology* 82, 144–152.
- Rhoton, A.L., O’Learly, J.L., Ferguson, J.P., 1966. The trigeminal facial vagal, and glossopharyngeal nerves in the monkey. *Arch. Neurol.* 14, 530–540.
- Sakai, K., 1985. Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. In: McGinty, D.J., Drucker-Colin, R., Morrison, A., Parmeggiani, P.L. (Eds.), *Brain Mechanisms of Paradoxical Sleep*. Raven Press, New York, pp. 111–137.
- Sakai, K., Touret, M., Salvert, D., Jouvet, M., 1977. Afferent projections to the cat locus coeruleus as visualized by the horseradish peroxidase technique. *Brain Res.* 119, 21–42.
- Shihara, M., Hori, N., Hirooka, Y., Eshima, K., Akaike, N., Takeshita, A., 1999. Cholinergic systems in the nucleus of the solitary tract of rats. *Am. J. Physiol.* 276, R1141–R1148.
- Siegel, J.M., 1991. Narcolepsy: a key role for hypocretins (orexins). *Cell* 98, 409–412.
- Snider, R., Niemer, W., 1961. *A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain*, first ed. University of Chicago Press, Chicago.
- Takeuchi, Y., Matsushima, S., Matsushima, R., Hopkins, D., 1983. Direct amygdaloid projections to the dorsal motor nucleus of the vagus nerve: a light electron microscopic study in the rat. *Brain Res.* 280, 143–147.
- Thallickal, T.C., Moore, R.Y., Nienhuis, R., Ramanathan, L., Gulyani, S., Aldrich, M., Cornford, M., Siegel, J.M., 2000. Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron* 27, 469–474.
- Ursin, R., Serman, M.B., 1981. *A Manual for Standardized Scoring of Sleep and Waking States in the Adult Cat*, first ed. University of California Press, Los Angeles (260 pp.).
- Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrígal, V.M., Martínez-Cervantes, A., Fernández-Mas, R., Fernández-Guardiola, A., 1997. Distribución temporal de las fases del ciclo sueño-vigilia en el gato: registros de 23 horas en condiciones de luz-oscuridad y oscuridad-luz. *Salud Ment.* 20 (Suppl. 1), 32–39.
- Vigier, D., Portalier, P., 1979. Efferent projections of the area postrema demonstrated by autoradiography. *Arch. Ital. Biol.* 117, 308–324.
- Vigier, D., Rouvière, A., 1979. Afferent and efferent connections of the area postrema demonstrated by the horseradish peroxidase method. *Arch. Ital. Biol.* 117, 325–348.
- Woodbury, D.M., Woodbury, J.W., 1990. Effects of vagal stimulation on experimentally induced seizures in rats. *Epilepsia* 31 (Suppl. 2), 7–19.
- Zanchetti, A., Wang, S.C., Moruzzi, G., 1952. The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 4, 357–361.

EFFECT OF VAGAL NERVE ELECTRICAL STIMULATION ON EEG ACTIVITY  
AND ON STAGES OF SLEEP-WAKEFULNESS CYCLE IN THE CAT.

Head title: Vagus nerve stimulation: effect on sleep and EEG

Alejandro Valdés-Cruz<sup>1</sup>, Víctor M. Magdaleno-Madrigal<sup>1</sup>, David Martínez-Vargas<sup>1</sup>,  
Rodrigo Fernández-Mas<sup>1</sup>, Salvador Almazán-Alvarado<sup>1</sup> and Augusto Fernández-  
Guardiola<sup>1,2, \*</sup>.

<sup>1</sup>Dirección de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón  
de la Fuente Muñiz, Secretaria de Salud, Ciudad de México and <sup>2</sup> Facultad de Psicología,  
UNAM.

\* In memoriam, deceased in May 2004.

Correspondence: Alejandro Valdés-Cruz, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la  
Fuente Muñiz, Calz. México-Xochimilco 101, Col. Sn Lorenzo Huipulco, México, DF,  
14370.

E-mail: alevalc@imp.edu.mx

Fax number: + (52) 55 56 55 99 80

Phone number: + (52) 55 56 58 28 18

## SUMMARY

In our laboratory we reported the effect of vagus nerve electrical stimulation (VNS) on sleep and behavior. However, the information related to this matter is scarce. Therefore, the aim of the present study is to analyze VNS effect on EEG and on the different stages of the sleep-wakefulness cycle in the cat. To achieve this, six male cats were implanted with electrodes on the left vagal nerve and submitted to 15 23-h continuous sleep recordings: baseline (BL), VNS and post-stimulus recording (PSR). The following parameters were analyzed: EEG power spectrum, total time and number of sleep phases, ponto-geniculo-occipital (PGO) waves density, and the number of times the narcoleptic reflex was present (sudden transition from wakefulness to REM sleep). Significant changes were detected, such as enhancement of slow-wave sleep stage II, power increment in the bands corresponding to sleep spindles (8-14 Hz) and delta waves (1-4 Hz) with VNS and PSR, increment in total time, number of stages, and density of PGO waves in REM sleep with VNS; diminution of wakefulness in PSR, and the eventual appearance of narcoleptic reflex with VNS. The results suggest that VNS exerts an influence on EEG activity and the sleep-wakefulness cycle by means of vagus nerve afferences concurring in the nucleus of the solitary tract and projected rostrally. The effects that go beyond the VNS period may be due to plastic changes elicited by vagal stimulation.

Keywords: Vagus nerve stimulation, REM sleep, slow-wave sleep, EEG activity, power spectrum, cat.

## INTRODUCTION

Vagal nerve electrical stimulation (VNS) is a new non-pharmacological treatment for controlling medically intractable epileptic seizures (Ben-Menachem et al., 1994; Terry et al., 1992; Uthman et al., 1993; Wilder et al., 1991). At the present time, it is an alternative treatment for a series of psychiatric conditions (Kosel and Schlaepfer, 2003); however, few studies have been carried out concerning VNS and its effect on EEG and sleep.

VNS effects on electroencephalographic activity were initially detected in the first experimental models in cats (Dell and Olson, 1951; Koch, 1932). In subsequent acute experiments, it was described that VNS originated cortical synchronization and desynchronization, depending on the frequency and intensity of stimulation (Chase et al., 1966, 1967; Chase and Nakamura, 1968). Other authors (Puizillout, 1976; Puizillout and Foutz, 1977) studied VNS influence on sleep stages in cat and reported an increment in slow-wave sleep (SWS) preceded by a rapid eye movement (REM) stage, as well as an increase in the frequency of this latter stage. In addition, in cats deprived of sleep, sudden transitions from wakefulness to REM sleep were observed, which they called narcoleptic reflex.

EEG recordings during the sleep-wakefulness cycle in cats show variations in the power spectrum dependent on the wakefulness state the animal is in. Generally, the power spectrum in the frequency band originated by the EEG recording through the various stages of sleep and wakefulness is very regular. However, this recording is sensitive to behavioral manipulations and pharmacological treatments (Lancel, 1993).

Under controlled conditions, EEG power density in SWS and REM sleep undergoes no systematic changes. Manipulation of the duration of wakefulness (Lancel et al., 1991, 1992) renders an increase in power activity lower than 15 Hz during sleep recovery. This EEG characteristic is species independent, since it is present in rodents, cats and humans (Lancel, 1993).

Rizzo et al. (2003, 2004) studied VNS effect on EEG power spectrum during the different sleep stages in patients with epilepsy. They described a diminution in REM sleep and diurnal somnolence and a power increase in the delta band during slow-wave sleep with VNS. The former evinces the possibility that VNS is not only causing changes in sleep architecture, but also modifications in EEG characteristics.

In our laboratory (Fernández-Guardiola et al., 1998, 1999) we reported that VNS induced changes in the wakefulness-sleep cycle in cats subject to amygdaline kindling.

Subsequently, using chronic preparations in freely moving cats, we described an increase in total time and in the number of REM phases when VNS was used. Besides, the pontogeniculo-occipital (PGO) waves density increased in this same stage, and the occasional presence of narcoleptic reflex was also reported (Valdés-Cruz et al., 2002). The importance of undertaking 23-h recordings was highlighted in these studies, since long-term sleep changes were observed.

However, the information concerning long-term effects of VNS on EEG and sleep wakefulness cycle is scarce. Therefore, the aim of the present study is to describe and analyze VNS effect on the stages of the sleep-wakefulness cycle and on the EEG power spectrum in freely moving cats.

## MATERIAL AND METHODS

### *Animals*

Six male adult cats weighing between 3800 and 4500 g were used. During the experiments animals were kept in soundproof recording boxes (1.2 m x 0.8 m x 0.8 m) under controlled temperature ( $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) with water and food *ad libitum*. They were subjected to a light-dark cycle (12:12h) with lights on at 8:00 h; one hour was dedicated for cleaning and food providing initiating at 7:00 h. All experiments were carried out following the technical guidelines for the production, care and use of laboratory animals issued by the SAGARPA (NOM-062-ZOO-1999) and approved by the ethics committee of this institute (Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente).

### *Procedure*

Surgery was carried out under halothane anesthesia by the inhalation of 5% concentration of this compound in an oxygen flux ( $\text{O}_2$ ) during induction, and 2% for maintenance. Ketamine hydrochloride (0.5 mg/kg) was used as a preanesthetic together with an analgesic (Butarfanol, 0.4 mg/kg) and a muscle relaxant (xylazine hydrochloride, 0.1 mg/kg). Stainless steel bipolar electrodes were implanted on both lateral geniculate bodies (LGB) in the thalamus according to the coordinates of the Atlas by Snider and Niemer (1961). Epidural electrodes directed to both prefrontal cortices were used for EEG recording. In addition, nail-shaped electrodes were placed in the supraorbital cavity for electrooculogram recording. An electromiogram was obtained with flexible electrodes inserted in the nape muscles. Left vagus nerve was dissected at neck level, caudal to the larynx and implanted with a stainless steel hairpin-shape bipolar electrode. All electrodes were connected to a connector DB-25 and fixed to the skull with dental acrylic. After



surgery, animals were given antibiotic and analgesic treatments for five days, and 10 more days for adapting to the recording conditions.

### *Recordings*

Animals were subjected to 15 continuous 23-h recordings with the following schedule: five baseline recordings (BL), five with VNS, and five posterior to the stimulation days (PSR). VNS was applied with a stimulator S88 (Grass) with an isolation unit; the stimulation consisted of trains of 0.5 ms pulses, frequency 30 Hz for one minute and an intensity varying between 2.0 and 3.0 mA. This schedule was applied five times a day with 1:00 h intervals (from 10:00 to 14:00 h). VNS threshold was established by following polygraphic and behavioral signs described by us elsewhere (Fernández-Guardiola et al., 1998, 1999).

EEG activity was acquired on-line for each of our recordings along 6-h intervals using an analog/digital converting system (Astro-Daq) with a 100 Hz sampling frequency. A posterior analysis of the power spectrum evolution in the frequency domain was carried out using a computer program developed in our laboratory (Fernández-Mas et al., 1998). Power numerical values corresponding to the bands of sleep spindles and delta waves during this 6 h acquisition interval were normalized to 1.

Recordings were evaluated following the criteria of Ursin and Sterman (1981). The analysis involved phase numbers (appearance) and total time for each of the different stages of the wakefulness-sleep cycle viz.: SWS I, SWS II, REM sleep and wakefulness along the 23 hours. Numerical values were drawn from a computer program (winsleep) designed in our lab for off-line sleep analysis (Fernández-Guardiola et al., 1995; Valdés Cruz et al., 1997). Besides, the density of PGO potentials in REM sleep and the number of times cats presented the narcoleptic reflex were also quantified.

### *Statistical analysis*

The comparison of every variables using Friedman's analysis of ranks for related samples was carried out for the three recording conditions. A further Wilcoxon's t-test for related samples was applied for those analyses having a statistical significance  $p < 0.05$  to define the condition presenting the variation.

## RESULTS

### *Effect on behavior*

Ipsilateral miosis, relaxation of nictant membrane, blinking, rapid eye movements in bursts, licking, abdominal contractions, sudden and brief immobilizations, anisocoria,

swallowing and eventually yawning and meowing were encountered. However, these manifestations decreased as VNS periods elapsed.

[Fig. 1]

#### *Effect on sleep stages*

By using Friedman's analysis of ranks, a difference in total time during wakefulness and SWSII was observed; wakefulness was significantly decreased (Wilcoxon's t-test,  $p < 0.03$ ) in PSR compared with BL (Fig. 1A), whereas SWS II increased significantly (Wilcoxon's t test,  $p < 0.03$ ) in VNS and PSR compared to BL (Fig. 1B). For REM sleep, its total time and number of phases in this stage presented a significant difference between groups (Friedman's analysis of ranks,  $p < 0.05$ ); in both cases VNS values were significantly higher (Wilcoxon's t-test,  $p < 0.03$ ) (Fig. 2A and B).

[Fig. 2]

Variations in the duration of sleep stages were not reflected over a temporal distribution of the stages during the 23-h recording time, since they followed the same polyphasic pattern (Fig. 3).

[Fig. 3]

The narcoleptic reflex, sudden onset from wakefulness to REM sleep (Fig. 4), was present at times in all animals with VNS (Table 1); it should be noted that when this phenomenon was present it occurred after more than 6 hours of having applied vagal stimulation, with no other particular pattern.

[Fig. 4]

Finally, a significant difference among groups (Friedman's analysis of ranks,  $p < 0.05$ ) was encountered in the density of PGO potentials, manifested as a significant increase (Wilcoxon's t-test,  $p < 0.03$ ) during the five days VNS was applied (Fig. 5A and B).

[Fig. 5]

#### *Spectral analysis*

EEG traces showed that spindles during SWS II exhibited larger amplitude in VNS and PSR intervals compared with BL. In addition, since no variations in the temporal distribution of sleep stages were found, a comparison of EEG power spectra (Fig. 6) among the equivalent periods of the wakefulness-sleep cycle was made for each condition (Friedman's analysis of ranks,  $p < 0.05$ ), yielding a significant increase in absolute power during the slow phase sleep in VNS and PSR conditions compared with BL (Wilcoxon's t-test,  $p < 0.03$ ) in the 1-4 Hz bands, which correspond to delta activity and in 8-14 Hz frequency corresponding to sleep spikes (Fig. 7A and B).

[Fig. 6]

## DISCUSSION

The effects on behavior were identical to those described and addressed in a previous study (Valdés-Cruz et al., 2002). However, the behavior of the animals declined as the stimulation periods progressed. This pattern is similar to that found in patients with refractory epilepsy, since during the stimulation period they present coughing, paresthesias and even pain, symptoms that tend to disappear with time (Schachter, 2002; Ben-Menachem, 2001; Morris et al., 1999). In the clinical practice, a precise relation between the evoked behavior induced by VNS and its efficacy has not yet been well determined (Heck et al., 2002). We thus decided to utilize parameters that show an evident initial onset of the behavioral display, since a phenomenon similar to habituation takes place, which complies with some of the criteria established by Thompson and Spencer (1966) viz.: the response decreases with the repetitive stimulation, habituation is enhanced when the frequency of the stimulation increases, and in some occasions, responses are recovered in between every stimulation day.

Vagal stimulation exerted a significant effect on the stages of the wakefulness-sleep cycle. However, changes in REM sleep occurred only during the days of stimulation, whereas variations in SWS were maintained during the days following stimulation. On the other hand, the diminution in wakefulness during PSR was seen to depend on the increase in SWS.

[Fig .7]

VNS effect on sleep may be due to afferent central projections of vagal nerve. These are originated in the nodose ganglion and the majority of the fibers direct themselves to the nucleus tractus solitarius (NTS) (Crill and Reils, 1968; Miaura and Reis, 1972; Rhoton et al., 1966). In cats, different neuronal groups belonging to this nucleus have shown changes in their firing pattern depending on the sleep stage (Eguchi and Satoh, 1980).

NTS importance on SWS has been previously reported (Reinoso\_barbero and De Andrés, 1995). Magnes et al (1961) demonstrated that NTS low frequency electrical stimulation originates EEG synchronization. On the contrary, desynchronization is achieved with a lesion to this nucleus (Bonvallet and Allen, 1963). In addition, the firing rate of NTS neurons is higher during SWS in comparison to wakefulness (Eguchi and Satoh, 1980). Electrical stimulation of vagal nerve in semichronic preparations, gives rise to SWS signs, such as pupil dilation and synchronized EEG even after a lesion of the

dorsal raphe nucleus (DRN), which also plays an important role during slow activity sleep (Sakai and Crochet, 2000).

In whole animals, VNS may exert an effect on DRN through NTS (Hebert and Saper, 1992) by modifying serotonergic mechanisms that modulate the activation of thalamocortical networks in alert states. Serotonin inhibits thalamocortical neurons (Sakai and Crochet, 2000) and excites gabaergic neurons in thalamus reticular nucleus (McCormick and Wang, 1991), as well as local gabaergic neurons in thalamus and cerebral cortex (Monckton and McCormick, 2002; Sheldon and Aghajanian, 1990). This neurotransmitter acts as sleep promoter by directly inhibiting thalamocortical neurons and exciting gabaergic interneurons located in the cortex and thalamus with the subsequent reduction in neuronal activity, that is, it produces EEG synchronization (Sakai and Crochet, 2001).

NTS has also cholinergic and excitatory aminoacid projections to structures involved in REM sleep (Danguir et al., 1988; Laguzzi et al., 1984; Nosjeau et al., 1987; Puizillout, 1986; Shihara et al., 1999), such as parabrachialis nucleus (PBN) (Granatta and Kiati, 1989), amygdala (AM) in the temporal lobe (Duan et al., 1994; Halsell, 1998; Takeuchi et al., 1983) and locus coeruleus (LC) and subcoeruleus (Sakai et al., 1977). Moreover, NTS presents a *C-fos* increase in animals having an increment in REM sleep due to auditory stimulation (Merchant-Nancy et al., 1992).

The importance of PBN and LC during tonic and phasic events in REM sleep is well documented (Jouvet, 1972; Sakai, 1985). In PBN and AM an enduring induction of REM sleep has been achieved using direct cholinergic stimulation (Calvo et al., 1992, 1996), particularly, in both cases, an increase for several days in PGO potentials has been found. The increase in the density of these potentials may be accounted for by the activation of these areas through NTS propitiated by VNS. This enhancement lasts only for the stimulation days, since at the onset of the first PSR, PGO potentials return to basal values.

[Table 1]

Sudden transitions from wakefulness to REM sleep (narcoleptic reflex) were previously described in an *encéphale isolé* preparation in cats deprived of sleep (Puizillout, 1977). In our study, animals exhibit narcoleptic reflex in spite of the increment in REM sleep, ruling out the pressure of this sleep state as the originator of the reflex. VNS effect has been studied in dogs with genetic narcolepsy, but an effect has only been observed on cataplexy (Fujiki et al., 2003). Even though the narcoleptic reflex

appeared no more than twice in the 23-h recording (see Table 1), it was only present with VNS and without a defined pattern for its occurrence; cats presented no other indicative sign of this syndrome. Some NTS afferent fibers show a high density of neurons immunoreactive to orexins (Peyron et al., 1998; Zhang et al., 2004) which play an important role in narcolepsy (Siegel, 1999); Thallickal et al., 2000). In this case these may be involved in the appearance of the narcoleptic reflex through interconnections between hypothalamus and NTS (Cechetti, 1987).

The power spectrum during SWS with VNS exhibited a significant increase in the delta and sleep spindles frequencies, these persisted in the days following stimulation. In animals such as cats, lacking a strong circadian component, less variations occur in EEG power spectrum during a 24-h recording, since no long wakefulness periods are present (Lancel, 1991) and the higher power is related to delta activity in the first SWS stages decreasing progressively during the following SWS (Lancel, 1992). However, using sleep deprivation in distinct periods, an enhancement in all frequency ranges of this stage can be induced (Tobler et al., 1990). This suggests that a power increase is a reflex of the pressure sleep exerts for keeping the wakefulness state for longer periods than normal (Dijk et al., 1990). In our results the power increase in sleep spindles and delta period may not be related to the duration of wakefulness, but to the influence VNS exerts on thalamocortical networks generating slow waves during sleep through first and second order projections (Rutecki, 1990). The persistence in this increase, particularly in sleep spindles in PSR, may reflect a stronger effect on neurons of reticular nucleus of thalamus that are essential for its generation (Steriade and Timofeev, 2003).

Vagus nerve and vagal complex are considered essential for the different sleep stages to take place, no matter the VNS influence on SWS and REM sleep. In studies where the VNS effect on sleep has been studied in patients with refractory epilepsy, the following findings have been described: a power enhancement in the delta band (Rizzo et al., 2004) and an increment in diurnal alertness (Ferrillo et al., 2004; Malow et al., 2001); the latter is associated with the quality of night sleep and not to a global increase in wakefulness. In the case of cats, whose sleep pattern may be considered polyphasic (Tobler, 1995), the quality of sleep is reflected on a significant increase in REM sleep and SWS.

In this manner, it may be concluded that VNS effect is manifested in three stages. The first one is observed during VNS initiation, in which effects on behavior are evident and as stimulations proceed habituation is installed. The second stage is identified by an

increase in the number of phases and duration of REM sleep, as well as an increment in the density of PGO waves within this level. And a third stage initiated during VNS and maintained in PSR; this consists of an increment in total time of SWS II, as well as an increase in EEG power spectrum particularly in the bands correspondent with sleep spindles and delta activity. Those effects that are long-lasting, that is, go beyond VNS may reflect plastic changes originated by vagal stimulation.

#### ACKNOWLEDGMENTS

Authors are grateful to Alejandro Rubio Luviano and Alfredo Martínez Rojas for technical assistance; Raúl Cardoso and José Luis Calderón for preparation of the illustration. They also wish to thank M. Sánchez Alvarez for the English version of this manuscript. Project 3210-A was partially supported by DGAPA-UNAM IN-204102 grant.

#### REFERENCES

- Ben-Menachem, E., Manon-Espaillat, R., Ristanovic, R., Wilder, B. J., Stefan, H., Mirza, W., Tarver, W. B. and Wernicke, J. F. First International Vagus Nerve Stimulation Study Group. Vagus nerve stimulation for treatment of partial seizures: 1. A controlled study of effect on seizures. *Epilepsia*, 1994, 35: 616-626.
- Ben-Menachem, E. Vagus nerve stimulation, side effects, and long-term safety. *J. Clin Neurophysiol.*, 2001,18:415-418.
- Bonvallet, M. and Allen, M. B. J. Prolonged spontaneous and evoked reticular activation following discrete bulbar lesions. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1963, 15:969-88.
- Calvo, J. M., Datta, S., Quattrochi, J. and Hobson, J. A. Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the Cat .2. Delayed and prolonged increases in REM Sleep. *Arch Ital. Biol.*, 1992, 130: 285-301.
- Calvo, J. M., Simón-Arceo, K. and Fernández-Mas, R. Prolonged enhancement of REM sleep produced by carbachol microinjection into the amygdala. *Neuroreport*, 1996, 7: 577-580.
- Cechetto, D. Central representation of visceral function. *Fed Proc.*, 1987, 46: 17-23
- Crill, W. E. and Reils, D. J. Distribution of carotid sinus and depressor nerves in brain stem. *Am. J. Physiol.*,1968, 214: 269-276.
- Chase, M. H. and Nakamura, Y. Cortical and subcortical EEG patterns of response to afferent abdominal vagal stimulation: neurographic correlates. *Physiol. Behav.*, 1968, 3: 605-610.

- Chase, M. H., Nakamura, Y. and Clemente, C. Afferent vagal stimulation: neurographic correlates of induce EEG synchronization and desynchronization. *Brain Res.*, 1967, 5: 236-249.
- Chase, M. H., Serman, M. B. and Clemente, C. D. Cortical and Subcortical Patterns of Response to Afferent Vagal Stimulation. *Exp Neurol.* 1966, 16: 36-49.
- Danguir, J., De Saint, H. and Kafi, S. Somatostatin antiserum blocks carbachol-induced increase of paradoxical sleep in the rat. *Brain Res Bull.* 1988, 20: 9-12.
- Dell, P. and Olson, P. Projections secondaires mesencephaliques, encephaliques et amygdaliennes des afferences viscerales vagales. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1951, 145: 1088-1091.
- Dijk, D. J., Brunner, D. P., Beersma, D. G. M. and Borbély, A. A. Electroencephalogram power density and slow wave sleep as a function of prior waking and circadian phase. *Sleep*, 1990, 13: 430-440.
- Duan, Y. F., Winters, R., McCabe, P. M., Green, E. J., Huang, Y. and Schneiderman, N. Modulation of neuronal firing in the medullary solitary complex by electrical stimulation of the hypothalamic defense and vigilance areas in rabbits. *Brian Res.*, 1994, 643: 218-226.
- Eguchi, K. and Satoh, T. Characterization of neurons in the region of solitary tract nucleus during sleep. *Physiol. Behav.*, 1980, 24: 99-102.
- Fernández-Guardiola, A., Martínez, A. and Fernández-Mas, R. Repeated penicillin-induced amygdala epileptic focus in freely moving cats. EEG, polysomnographic (23-h recording), and brain mapping study. *Epilepsy Res.*, 1995, 22: 127-136.
- Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V. M., Martínez, D. and Fernández-Mas, R. Vagus nerve chronic stimulation in cats: effects on epileptogenesis (amygdala electrical kindling): behavioral and electrographic changes. *Epilepsia*, 1999, 40: 822-829.
- Fernández-Guardiola, A., Martínez, A., Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V. M. and Fernández-Mas, R. Left vagus nerve stimulation: effects on circadian sleep organization and kindling development in the cat. In: M. E. Corcoran and S. Moshe (Eds) *Kindling 5*. Plenum Press, New York, 1998: 495.
- Fernández-Mas, R., Valdés, A., Martínez, A., Magdaleno, V. M., Almazán, S., Martínez, D. and Fernández-Guardiola, A. Visualización gráfica de las transiciones de las fases del sueño en el hombre: Métodos de representación tridimensional. *Salud Mental*, 1998, 21: 27-32.
- Fujiki, N., Yoshida, Y., Shiba, T., Parnis, S. and Nishino, S. Vagus nerve stimulation modulates cataplexy in narcoleptic dogs. *Sleep and Biological Rhythms*, 2003, 1: 191-193.
- Granatta, A. R. and Kitai, S. T. Intracellular study of nucleus parabrachialis and nucleus tractus solitarii interconnections. *Brain Res.*, 1989, 492: 281-292.

Halsell, C. B. Differential distribution of amygdaloid input across rostral solitary nucleus subdivisions in rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1998, 30: 482-485.

Hebert, H. and Saper, C. B. Organization of medullary adrenergic and noradrenergic projections in the periaqueductal gray matter in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 1992, 315: 34-52.

Heck, C., Helmers, S. L. and DeGiorgio, C. M. Vagus nerve stimulation therapy, epilepsy, and device parameters: scientific basis and recommendations for use. *Neurology*, 2002, 59 (Suppl 4):31-37.

Jouvet, M. The role of monoamines and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. In: M. Jouvet and G. Moruzzi (Eds). *Neurophysiology and Neurochemistry of Sleep and Wakefulness. Reviews of Physiology*. Heidelberg, New York, 1972: 166.

Koch, E. Die Irradiatio Der Pressoreptorischen Krieslaufreflexe. *Klin. Wsch.*, 1932, 11: 225-227.

Kosel, M. and Schlaepfer, T. E. Beyond the treatment of epilepsy: new applications of vagus nerve stimulation in psychiatry. *CNS Spectr.*, 2003, 8: 515-521.

Laguzzi, R., Ries, D. J. and Talman, W. T. Modulation of cardiovascular and electrocortical activity through serotonergic mechanisms in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res.*, 1984, 304: 321-328.

Lancel, M., Van Riezen, H. and Glatt, A. Effects of circadian phase and duration of sleep deprivation on sleep and EEG power spectra in the cat. *Brain Res.*, 1991, 548:206-214.

Lancel, M., Van Riezen, H. and Glatt, A. Enhanced slow-wave activity within NREM sleep in the cortical and subcortical EEG of the cat after sleep deprivation. *Sleep*, 1992, 15:102-118.

Lancel, M. Cortical and subcortical EEG in relation to sleep-wake behavior in mammalian species. *Neuropsychobiology*, 1993, 28:154-159.

Magnes, J., Moruzzi, G. and Pompeiano, O. Synchronization of the EEG produced by low frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. *Arch. Ital. Biol.*, 1961 99: 33-67.

Malow, B. A., Edwards, J., Marzec, M., Sagher, O., Ross, D. and Fromes, G. Vagus nerve stimulation reduces daytime sleepiness in epilepsy patients. *Neurology*. 2001, 57:879 -884.

McCormick, D. A. and Wang, Z. Serotonin and noradrenaline excite GABAergic neurons of the guinea-pig and cat nucleus reticularis thalami. *J. Physiol. (London)*, 1991; 442: 235-55.

Merchant-Nancy, H., Vázquez, J., Aguilar-Roblero, R. and Drucker-Colín, R. C-fos proto-oncogene changes in relation to REM sleep duration. *Brain Res.* 1992, 579: 342-346.



- Miaura, M. and Reis, D. J. The role of the solitary and paramedian nuclei in mediating cardiovascular reflex responses from carotid baro- and chemoreceptor. *J. Physiol.*, 1972, 223: 525-548.
- Monckton, J. E. and McCormick, D. A. Neuromodulatory role of serotonin in the ferret thalamus. *J. Neurophysiol.*, 2002, 87: 2124-2136.
- Morris III, G. L. and Mueller, W. M. The vagus nerve stimulation study group EO1-EO5. Long-term treatment with vagus nerve stimulation in patients with refractory epilepsy. *Neurology*, 1999, 53:1731-5.
- Nosjean, A., Arluison, M. and Laguzzi, R. F. Increase in paradoxical sleep after destruction of serotonergic innervations in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuroscience*, 1987, 23: 469-481.
- Peyron, C., Tighe, D. K., Van Den Pol, A. N., De Lecea, L., Heller, H. C. Sutcliffe J. G. and Kilduff, T. S. Neuronal containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J. Neurosci.* 1998, 18: 9996-10015.
- Puizillout, J. Noyau du faisceau solitaire, serotonine et regulation de la vigilance. *Rev. Electrophysiol. Neurophysiol. Clin.*, 1986, 16: 96-106.
- Puizillout, J. and Foutz, A. S. Vago-aortic nerves stimulation and REM sleep: evidence for a REM-triggering and a REM-maintenance factor. *Brain Res.*, 1976, 111: 181-184.
- Puizillout, J. and Foutz, A. S. Characteristics of the experimental reflex sleep induced by vago-aortic nerve stimulation. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 1977, 42: 552-563.
- Reinoso-Barbero, F. and De Andrés, I. Effects of opioid microinjections in the nucleus of the solitary tract on the sleep wakefulness cycle states in cats. *Anesthesiology*, 1995, 82: 144-152.
- Rhoton, A. L., O'Leary, J. L. and Ferguson, J. P. The trigeminal facial vagal, and glossopharyngeal nerves in the monkey. *Arch. Neurol.*, 1966, 14: 530-540.
- Rizzo, P., Beelke, M., De Carli, F., Canovaro, P., Nobili, L., Robert, A., Fornaro, P., Tanganelli, P., Regesta, G. and Ferrillo, F. Modifications of sleep EEG induced by chronic vagus nerve stimulation in patients affected by refractory epilepsy. *Clin. Neurophysiol.*, 2004, 115: 658-664.
- Rizzo, P., Beelke, M., De Carli, F., Canovaro, P., Nobili, L., Robert, A., Tanganelli, P., Regesta, G. and Ferrillo, F. Chronic vagus nerve stimulation improves alertness and reduces rapid eye movement sleep in patients affected by refractory epilepsy. *Sleep*, 2003, 26:607-611.
- Rutecki, P. Anatomical, physiological, and theoretical basis for the antiepileptic effect of vagus nerve stimulation. *Epilepsia*, 1990, 31 (Suppl 2): S1-S6.

Sakai, K. and Crochet, S. Differentiation of presumed serotonergic dorsal raphe neurons in relation to behavior and wake-sleep states. *Neuroscience*, 2001, 104: 1141-1155.

Sakai, K. and Crochet, S. Serotonergic dorsal raphe neurons cease firing by disfacilitation during paradoxical sleep. *Neuroreport*, 2000, 11: 3237-3241.

Sakai, K., Touret, M., Salvert, D. and Jouvet, M. Afferent projections to the cat locus coeruleus as visualized by the horseradish peroxidase technique. *Brain Res.*, 1977, 119: 21-42.

Sakai, K. Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. In: D. J. McGinty, R. Drucker-Colín, A. Morrison and P. L. Parmeggiani (Eds) *Brain Mechanisms of Paradoxical Sleep*. Raven Press, New York, 1985: 166.

Schachter, S. C. Vagus nerve stimulation therapy summary: five years after FDA approval. *Neurology*, 2002, 59(Suppl 4):15-20.

Sheldon, P. W. and Aghajanian, G. K. Serotonin (5-HT) induces IPSPs in pyramidal layer cells of rat piriform cortex: evidence for the involvement of a 5-HT<sub>2</sub>- activated interneuron. *Brain Res.*, 1990, 506: 62-69.

Shihara, M., Hori, N., Hirooka, Y., Eshima, K., Akaike, N. and Takeshita, A. Cholinergic systems in the nucleus of the solitary tract of rats. *Am. J. Physiol.*, 1999, 276: 1141-1148.

Siegel, J. M. Narcolepsy: A key role for hypocretins (orexins). *Cell*, 1999, 98: 409-412.

Snider, R. S. and Niemer, W. T. *A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain*. University of Chicago Press. Chicago. 1961 (first edition).

Steriade, M. and Timofeev, I. Neuronal plasticity in thalamocortical networks during sleep and waking oscillations. *Neuron*, 2003, 37:563-576.

Takeuchi, Y., Matsushima, S., Matsushima, R. and Hopkins, D. Direct amigdaloid projections to the dorsal motor nucleus of the vagus nerve: a light electron microscopic study in the rat. *Brain Res.*, 1983, 280: 143-147

Terry, R., Tarver, W. B. and Zabara, J. An implantable neurocybernetic prosthesis system. *Epilepsia*, 1992, 31 (Suppl 2): S44-S50.

Thallickal, T. C., Moore, R. Y., Nienhuis, R., Ramanathan, L., Gulyani, S., Aldrich, M., Cornford, M. and Siegel, J. M. Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron*, 2000, 27: 469-474.

Thompson, R. F. and Spencer, W. A. Habituation: a model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychol. Rev.*, 1966, 73: 16-43.

Tobler, I. Is sleep fundamentally different between mammalian species? *Behav. Brain Res.*, 1995, 69: 35-41.

Tobler, I., Franken, P. and Scherschlicht, R. Sleep and EEG spectra in the rabbit under baseline conditions and following sleep deprivation. *Physiol. Behav.*, 1990, 48:121-129.

Ursin, R. and Sterman, M. B. *A Manual for Standardized Scoring of Sleep and Waking States in the Adult Cat*. University of California Press, Los Angeles, 1981 (first edition).

Uthman, B. M., Wilder, B. J., Penry, J. K., Dean, C., Ramsay, R. E., Reid, S. A., Hammond, E. J., Tarver, W. B. and Wernicke, J. F. Treatment of epilepsy by stimulation of the vagus nerve. *Neurology*, 1993, 43: 1338-1345.

Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V. M., Martínez-Vargas, D., Fernández-Mas, R., Almazán-Alvarado, S., Martínez, A. and Fernández-Guardiola, A. Chronic stimulation of the vagus nerve in cats: effect on sleep and behavior. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.*, 2002, 26: 113-118.

Valdés-Cruz, A., Magdaleno-Madrigal, V. M., Martínez-Cervantes, A., Fernández-Mas, R. and Fernández-Guardiola, A. Distribución temporal de las fases del ciclo sueño-vigilia en el gato: registros de 23 horas en condiciones de luz-oscuridad y oscuridad-Luz. *Salud Mental*, 1997, 20 (supl. 1): 32-39.

Wilder, B. J., Uthman, B. M. and Hammond, E. J. Vagal stimulation for control of complex partial seizures in medically refractory epileptic patients. *Pacing Clin., Electrophysiol.*, 1991, 14: 108-115.

Zhang, J. H., Sampogna, S., Morales, F. R. and Chase, M. H. Distribution of hypocretin (orexin) immunoreactivity in the feline pons and medulla. *Brain Res.*, 2004, 995: 205-217.

Figure 1

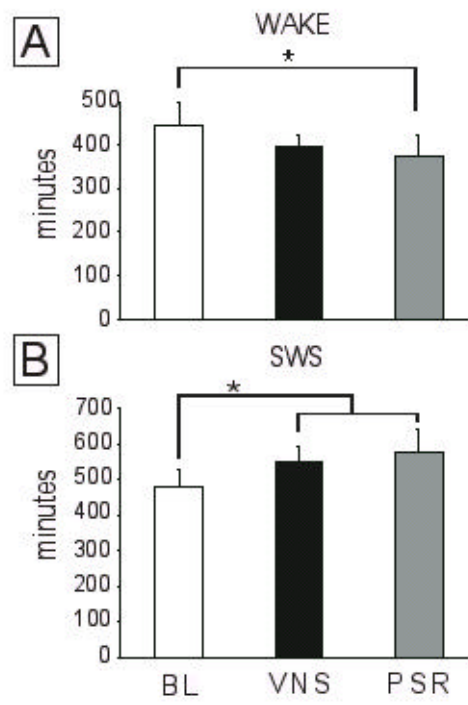


Figure 2

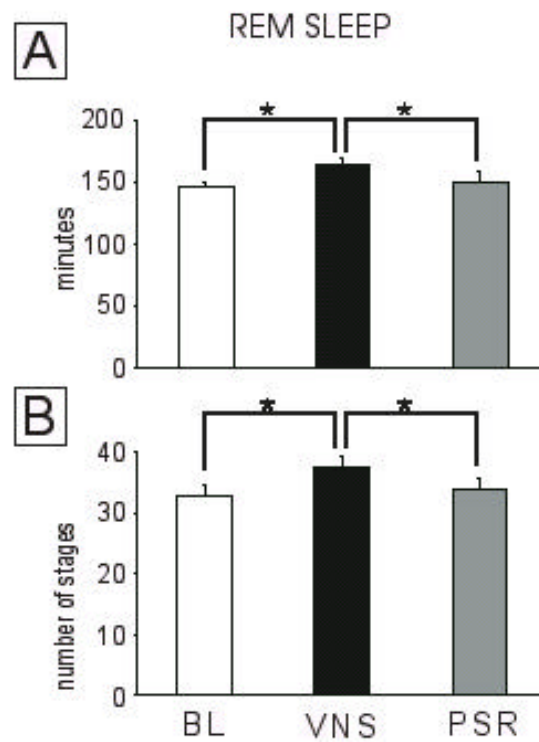


Figure 3

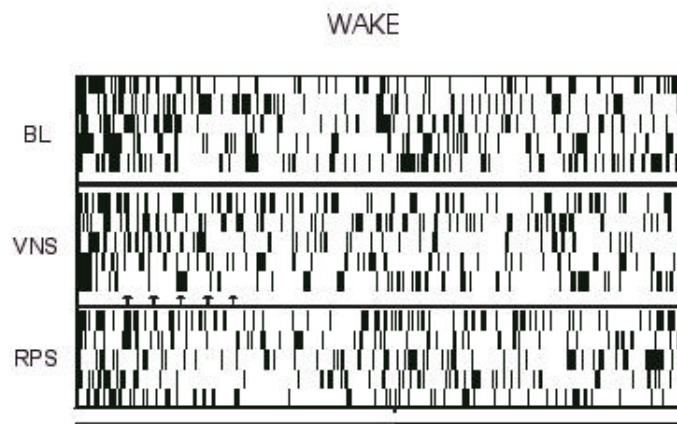


Figure 4

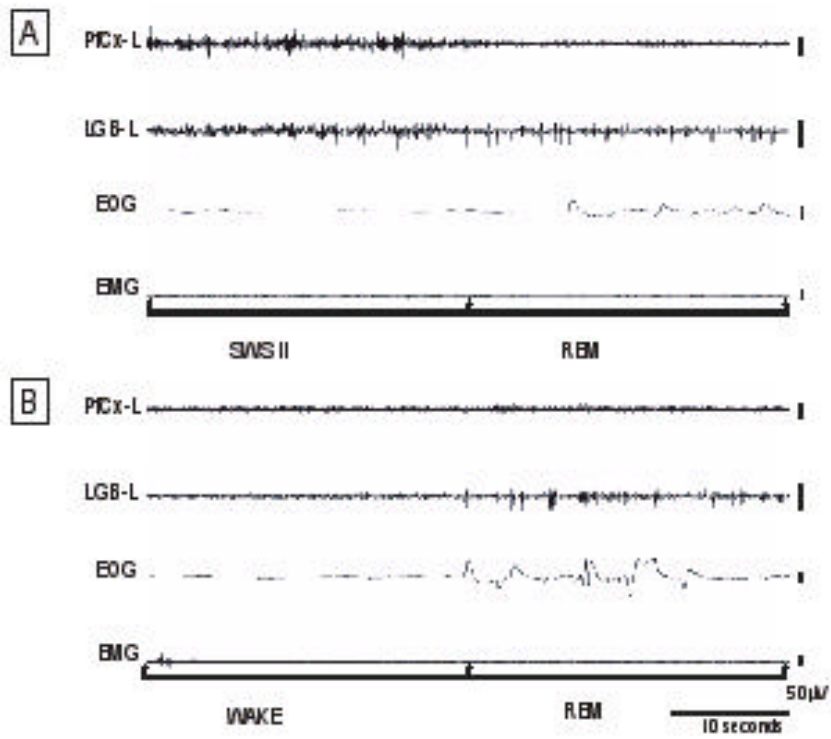


Figure 5

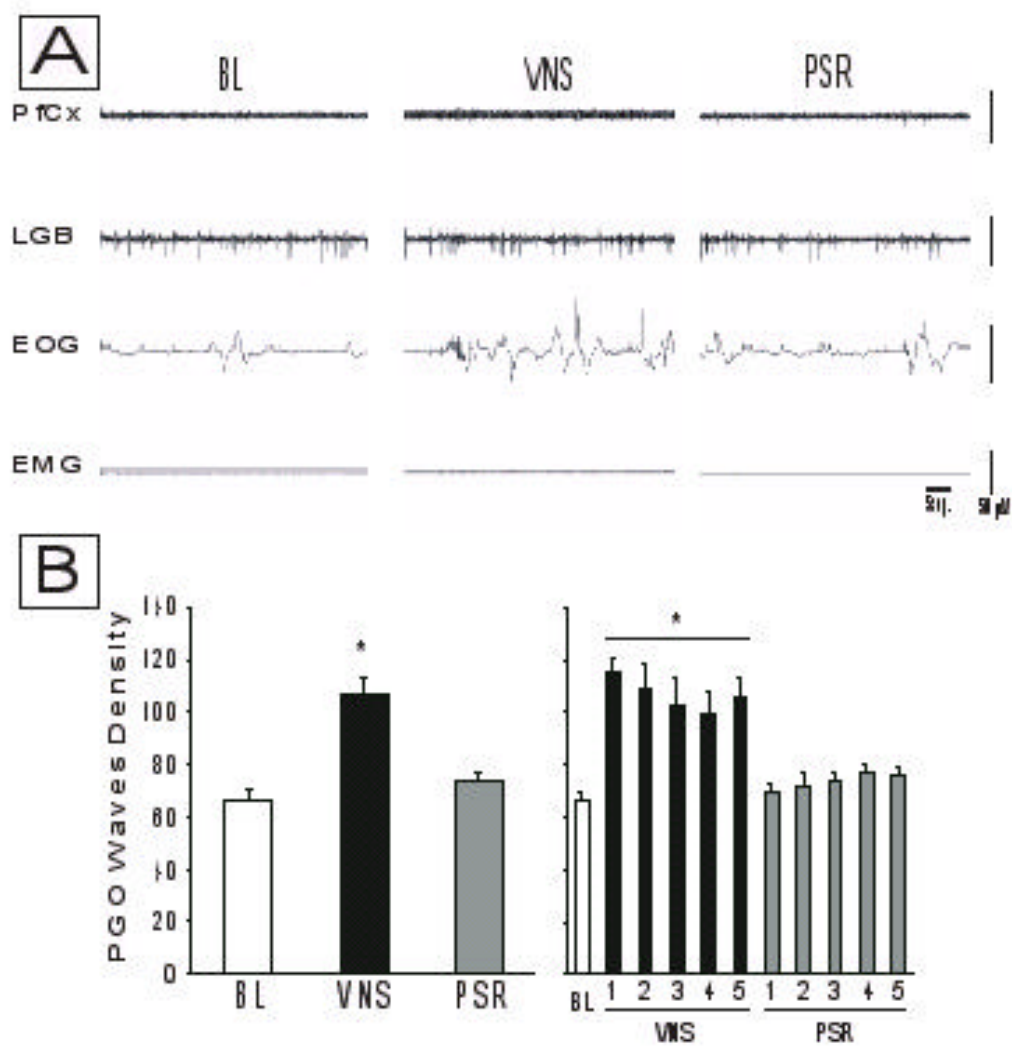


Figure 6

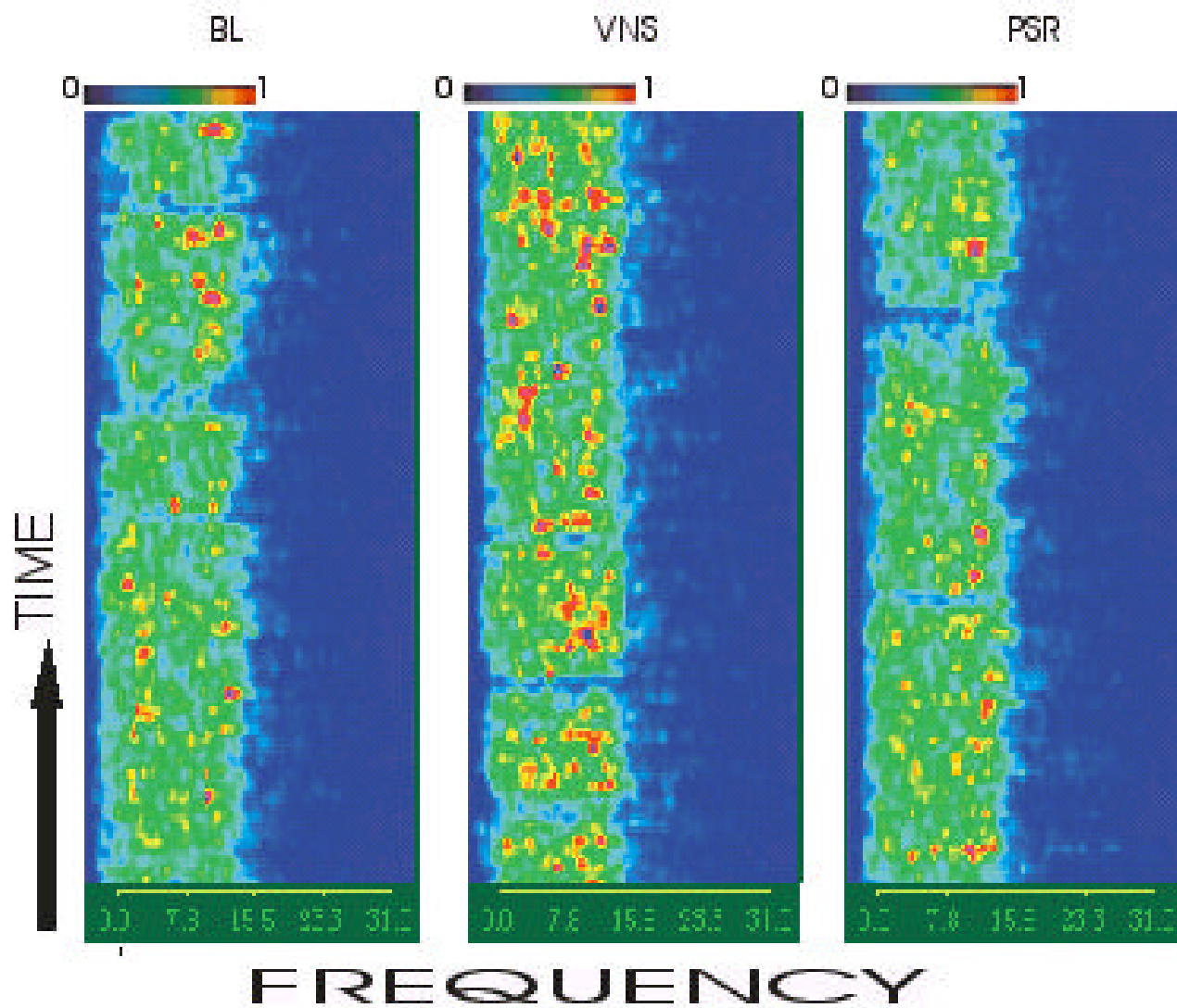


Figure 7

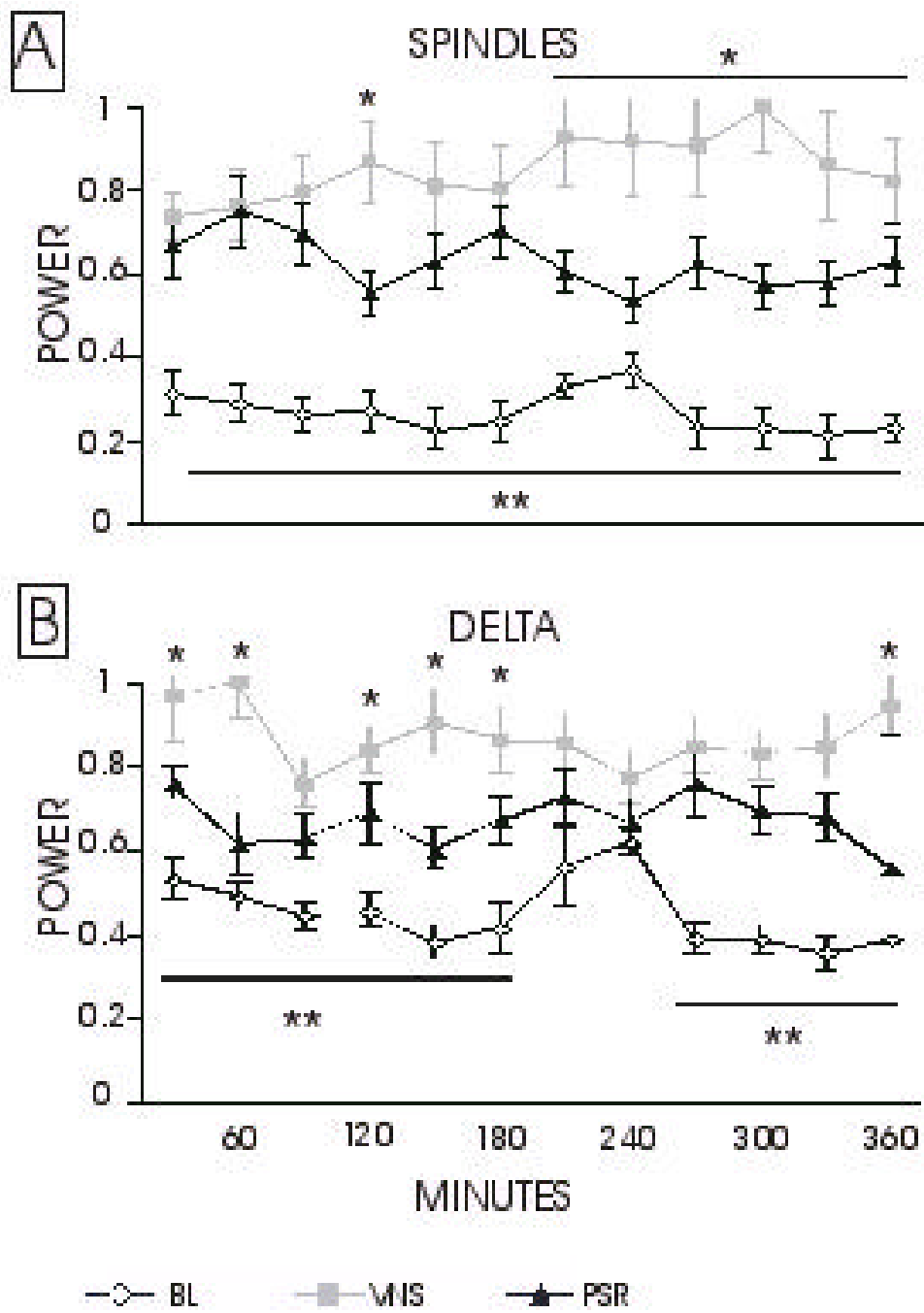




TABLE 1

Number of sudden transitions from wakefulness to REM sleep (narcoleptic reflex)

Cat	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
Cat 1	0	0	2	2	2
Cat 2	0	1	0	2	1
Cat 3	0	0	0	2	1
Cat 4	0	1	1	2	2
Cat 5	0	1	0	1	0
Cat 6	1	0	0	0	1