

202 194



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARACTERIZACION DE LA LIBERACION DE  
ACETILCOLINA EN EL CAMPO TEGMENTAL  
GIGANTOCELULAR DE LA RATA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O  
P R E S E N T A

PATRICIA ROJAS CASTAÑEDA

MEXICO, D. F.

1989.

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE	PAGINA
1. RESUMEN .....	1
2. INTRODUCCION .....	2
3. LA FORMACION RETICULAR DEL TALLO CEREBRAL	
3.1. ESTRUCTURA .....	4
3.2. FISIOLOGIA .....	8
4. GENERALIDADES DEL CICLO VIGILIA-SUEÑO .....	13
4.1. VIGILIA .....	13
4.2. SUEÑO .....	14
4.2.1. SUEÑO DE ONDAS LENTAS .....	15
4.2.2. SUEÑO REM .....	16
5. ACETILCOLINA Y SUEÑO	
5.1. LA ORGANIZACION NEUROANATOMICA DEL SISTEMA COLINERGICO .....	25
5.2. ACETILCOLINA Y COMPONENTES TONICOS Y FASICOS DEL SUEÑO REM .....	27
6. MODELO DE INTERACCION RECIPROCA .....	31
6.1. LA SUPUESTA POBLACION GENERADORA .....	33
6.2. NATURALEZA COLINERGICA DE LAS CELULAS .....	34
6.3. LA POBLACION MODULADORA DEL SUEÑO REM .....	36
6.4. CONSIDERACIONES ESTRUCTURALES DEL MODELO DE INTERACCION RECIPROCA .....	41
7. PROBLEMA .....	42
8. HIPOTESIS .....	42
9. OBJETIVOS .....	42
10. MATERIAL Y METODO .....	43
11. RESULTADOS .....	48
12. DISCUSION .....	55
13. CONCLUSIONES .....	61
14. REFERENCIAS .....	62

## 1. RESUMEN

El campo tegmental gigante-celular (FTG) es una región localizada en la formación reticular pontina que está relacionada con la generación del sueño de movimientos oculares rápidos (REM). Sin embargo, la delimitación de las neuronas e identificación de sus neurotransmisores no es conocida. Se ha propuesto el modelo de interacción recíproca para el control del sueño REM; éste considera la relación entre 2 poblaciones neuronales situadas a nivel pontino, una inhibidora (aminérgica) y otra excitadora (colinérgica) (Hobson y McCarley, 1975). En este modelo, la disminución en la actividad de las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus ó serotoninérgicas del rafe causan una desinhibición progresiva de las neuronas colinérgicas del FTG. La farmacología y electrofisiología apoyan esta interacción, aunque desde el punto de vista bioquímico no se ha valorado. Se propone un nuevo enfoque para conocer los mecanismos neuroquímicos que participan en la actividad colinérgica del FTG, caracterizando "in vitro" la liberación de acetilcolina (ACh) con la técnica de superfusión continua, así como los efectos en la liberación de ACh provocados por dos fármacos adrenérgicos como son el isoproterenol (agonista beta 1, 2) y el propranolol (antagonista beta 1, 2), con la finalidad de encontrar una posible interacción del sistema colinérgico y adrenérgico propuesto en el modelo de interacción recíproca para el FTG. Se utilizaron ratas macho wistar de 250-300 g para obtener las rebanadas de FTG con un grosor de 200-300  $\mu\text{m}$ , estas se preincubaban en presencia de colina radioactiva (el precursor de la síntesis de acetilcolina), se colocaron en cámaras de superfusión para llevar a cabo el análisis de la liberación de ACh que se provocó con un estímulo despolarizante con KCl 47 mM en dos condiciones: en presencia de calcio (2.5 mM) y en ausencia de éste + EGTA (0.1 mM). Nuestros resultados muestran que hay liberación de  $[^3\text{H}]\text{-ACh}$ , y que esta se libera en forma dependiente de calcio. Una vez caracterizada la liberación de ACh, se valoró que la marca radioactiva fuera de ACh y no del precursor. Por otro lado, al hacer uso de los fármacos adrenérgicos obtuvimos lo siguiente: en un medio no despolarizante, el isoproterenol 300 nM produjo liberación de ACh y en un medio despolarizante (con KCl 47 mM) no se encontró cambio sobre la liberación del transmisor en estudio. El propranolol 5 nM aplicado a un medio no despolarizante, no produjo efecto sobre la liberación de ACh y en un medio despolarizante (con KCl 47 mM) no se encontró cambio en la liberación de acetilcolina. Con los resultados obtenidos se sugiere que la liberación de ACh tiene un papel importante en esta región del tallo cerebral.

## 2. INTRODUCCION

El sueño es una de las funciones vitales experimentadas por el hombre y los animales placentarios terrestres.

La vigilia y el sueño, son funciones cerebrales, estados peculiares de interacción dinámica entre lugares específicos del cerebro y no de todo el encéfalo. El sueño de los mamíferos es un proceso de cambios continuos entre dos diferentes estados: sueño REM y no REM (NREM).

La neurobiología del sueño busca identificar, las neuronas que median este estado, y especificar los mecanismos por los cuales los conjuntos neuronales son activados e inactivados. Experimentos recientes y revisiones teóricas han propuesto múltiples centros, en la generación del estado de sueño (McGinty y Drucker-Colín, 1982; Vertes, 1984; Hobson et al., 1986). En recientes evidencias se sugiere que hay neuronas colinoceptivas en el tallo cerebral que están involucradas en el sueño REM (Hobson et al., 1986; McGinty y Drucker-Colín, 1982).

Existen evidencias de que las neuronas colinoceptivas en la formación reticular pontina, inician y mantienen el sueño REM (Hobson et al., 1986). Sin embargo, se desconoce el origen de estas proyecciones colinérgicas y también se desconoce la identidad química de esas neuronas.

Los mecanismos colinérgicos tienen un papel importante en el inicio y continuación del sueño REM, porque coinciden con el establecimiento de los estados o condiciones en las cuales ocurre el sueño REM.

En 1962 Jouvet, mostró que el sueño REM podía ser suprimido por atropina y producido por eserina. Esto permitió proponer una teoría sobre la producción de sueño REM dependiente al menos en parte, de mecanismos colinérgicos. En 1963 Hernández-Peón et al., demostraron que el sueño REM podía ser inducido por la aplicación de cristales de acetilcolina directamente en la vía que se extiende desde el tegmento pontino medial hasta la región preóptica, en el circuito límbico. Se ha demostrado que algunos o todos los estados del sueño desincronizado pueden ser producidos por la administración de agonistas colinérgicos en el tallo cerebral (Amatruda et al., 1975; Baghdoyan et al., 1984; Baxter, 1969; Cordeau et al., 1963., George et al., 1964; Hobson et al., 1983; Katayama et al., 1984; Mitler y Dement, 1974; Silberman, et al., 1980; Van Dongen et al., 1978; Vivaldi et al., 1980).

En 1975 Hobson et al. y McCarley y Hobson en 1975 propusieron el modelo de interacción recíproca para el control del sueño REM. En este modelo se plantea la interacción entre dos poblaciones de células en el tallo cerebral. Esas dos poblaciones tienen relación recíproca en los patrones de descarga durante la vigilia y el sueño. Para estos autores existen dos clases o sistemas de neuronas para el control del sueño REM:

- 1) Un sistema aminérgico (llamado células REM-off), localizado a nivel pontino y formado por el núcleo del rafe dorsal (serotoninérgicas) y el locus coeruleus (noradrenérgicas), y que muestran una frecuencia de descarga mayor durante el sueño NREM y una frecuencia de descarga menor durante el sueño REM.

- 2) El segundo sistema es el colinérgico (llamado células REM-on), localizadas en el campo tegmental gigantocelular (FTG),

bulbo y mesencéfalo, y tienen una frecuencia de descarga menor durante el sueño NREM y superior en el sueño REM.

En este modelo se le da mayor relevancia al FTG dentro del sistema colinérgico, porque hay evidencias fisiológicas y anatómicas que apoyan su mayor participación durante la generación del sueño REM, aunque se han propuesto otros núcleos, el papel central en este modelo es el FTG (Hobson y McCarley, 1975).

Existen evidencias farmacológicas, electrofisiológicas y anatómicas que apoyan esta interacción, sin embargo desde el punto de vista bioquímico nunca se han valorado los eventos involucrados en la generación del sueño REM (ondas FGO, atonía muscular, movimientos oculares rápidos, ritmo theta del hipocampo, desincronización cortical).

En este trabajo se propone un nuevo enfoque experimental para el análisis de los eventos neuroquímicos relacionados con el sueño, utilizando técnicas bioquímicas ya bien establecidas. Los estudios de diversa índole señalan la importancia de varias poblaciones neuronales de la formación reticular pontina, en la generación y mantenimiento del sueño REM, así como de algunos mensajeros químicos como la acetilcolina, la noradrenalina y la serotonina. Se ha destacado la participación de las neuronas colinérgicas y colinoceptivas del FTG y del tegmento pontomesencefálico. Sin embargo, aunque se tienen diversas evidencias sobre el papel que desempeñan tanto la formación reticular pontina como algunos mensajeros químicos en el sueño REM, se desconoce como se llevan a cabo eventos importantes de la neurotransmisión en esa región. En el presente trabajo se tiene interés por caracterizar "in vitro" la liberación de la acetilcolina en el FTG de la rata utilizando la técnica de superfusión continua. Este trabajo cubre una revisión bibliográfica sobre aspectos teóricos referentes a la morfología y fisiología de la formación reticular, profundizando en varios aspectos del sueño REM, así como el planteamiento teórico que apoya el modelo de interacción recíproca para el control del sueño REM. Posteriormente se presenta el trabajo experimental así como los resultados obtenidos que se discuten con relación al marco teórico.

### 3. LA FORMACION RETICULAR DEL TALLO CEREBRAL

#### 3.1. ESTRUCTURA

La formación reticular (FR) es una estructura filogenéticamente muy antigua. El término reticular puede ser referido como un "agregado de células de diferentes dimensiones, interconectadas por una rica red de fibras cuya estructura es difusa". La denominación "reticular" se debe al aspecto histológico que presenta, y que asemeja a un retículo formado por fibras que se cruzan en todos los sentidos con células o grupos celulares diseminados entre ellas. El sistema reticular se caracteriza por ser inespecífico, polineural, polisináptico y estar formado por sistemas de tractos relativamente difusos que conducen e integran una gran variedad de influencias ascendentes y descendentes, constituida por cadenas cortas de núcleos intermediarios. La formación reticular constituye el sustrato anatómico del sistema activador. Interviene en una variedad de procesos que incluyen la modulación y transmisión sensitiva a centros superiores, modulación de la actividad motora, control de las respuestas autónomas, regulación del ciclo vigilia-sueño y del electroencefalograma (EEG). La FR puede actuar como un sistema de transmisión múltiple, puede recibir impulsos sin emitirlos, y puede emitirlos sin haberlos recibido. La FR posee una función editora o seleccionadora. A ella llegan impulsos procedentes de todos los receptores periféricos, los cuales pueden ser detenidos, suprimidos o reforzados por su actividad intrínseca. Los límites de la FR se extienden desde la médula hasta el diencéfalo (ver figura 1), continuándose a nivel de éste en algunas formaciones reticulares propias del tálamo que han sido reunidas bajo la denominación de sistema reticular talámico.

**3.1.1. CITOLOGIA.** Las células de la FR tienen las mismas características que la mayoría de las neuronas. Citoplasma granuloso, núcleo muy ostensible y prolongaciones dendríticas cortas y poco ramificadas que no muestran espinas ni varicosidades, y un axón de longitud variable que emerge indistintamente del cuerpo celular o de una de las dendritas (Scheibel y Scheibel, 1958; Nauta y Kuypers, 1958). Este axón puede ser corto o largo; los axones largos constituyen las llamadas proyecciones ascendente y descendente de la FR.

Se conocen tres tipos de neuronas: 1.- Células multipolares de gran tamaño y con abundante substancia de Nissl, de somas alargados o fusiformes y cuyos axones se dirigen horizontalmente. 2.- Células pequeñas, de soma triangular y dendritas de mediana longitud. 3.- Células grandes, de bordes irregulares, provistas de dendritas cortas y poseedoras de núcleos excéntricos y substancia de Nissl dispuesta en capas yuxtapuestas.

Las células de axón corto (tipo II de Golgi) son menos abundantes en la FR de lo que se pensó. El tipo celular más común es el que posee un axón dicotomizado, con una (y hasta dos) rama ascendente y una rama descendente.

Las dendritas poseen forma y disposición variables. La FR está subdividida en varias regiones que difieren por su citoarquitectura, conexiones y organización intrínseca.

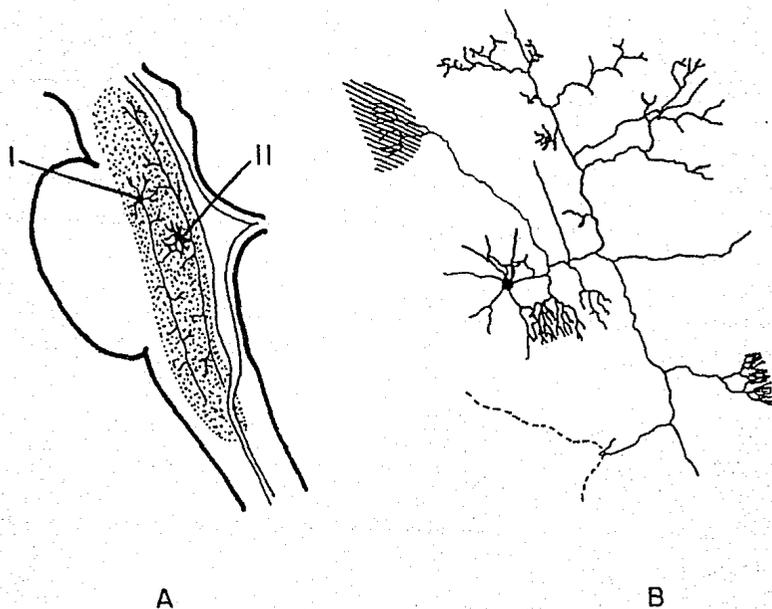


FIG. 1 NEURONAS DE LA FORMACIÓN RETICULAR. EN A SE PRESENTA LA FORMACIÓN RETICULAR EN UN CORTE SAGITAL MEDIO DEL TALLO CEREBRAL. SE VE UNA NEURONA DE AXÓN DESCENDENTE (I) Y OTRO CUYO AXÓN SE BIFURCA DANDO ORIGEN A RAMAS QUE ASCIENDEN Y DESCENDEN A LO LARGO DEL TALLO (II). EN B SE OBSERVA UNA NEURONA RETICULAR CON SUS PROLONGACIONES DENDRÍTICAS Y LAS RAMAS QUE PARTEN DEL AXÓN. (BASADO EN SCHEIBEL Y SCHEIBEL), RETICULAR FORMATION OF BRAIN, 1958).

### 3.1.2. CONEXIONES

Las conexiones pueden ser clasificadas en aferentes y eferentes.

**CONEXIONES AFERENTES:** La FR recibe impulsos de diferentes niveles neurales: del propio tallo cerebral, de la médula espinal y de estructuras situadas rostralmente al tallo, incluyendo la corteza cerebral.

1) **CONEXIONES CEREBELORETICULARES:** Proceden en su gran mayoría de los núcleos profundos del cerebelo, siendo muy escasas las que emergen de las células de Furkinje. Las fibras cerebelo-reticulares abandonan el cerebelo por los pedúnculos cerebelosos superior e inferior, constituyendo los haces fastigio-bulbar directo y el gancho de Russel, respectivamente.

Únicamente las fibras del fascículo fastigiobulbar directo proceden de la porción rostral del núcleo fastigio, mientras que las del haz en gancho, salen de la porción caudal de este mismo núcleo (Jansen y Jansen, 1956). Las fibras cerebelo-reticulares que constituyen ambos haces terminan en los sectores bulbar y pontino de la FR, especialmente en los núcleos gigantocelular, paramediano de Brodal y núcleos pontino oral y caudal. También los núcleos interposito y dentado del cerebelo proyectan a la FR, especialmente sobre los núcleos gigantocelular del bulbo y tegmental pontino de Bechterew. Al parecer, ninguna de estas fibras alcanza el núcleo paramediano de Brodal.

2) **FIBRAS ESPINO-RETICULARES.**— Axones procedentes de algunas neuronas del asta posterior de la médula ascienden por el cordón anterolateral, formando parte del haz espinocerebeloso ventral o del fascículo espinotalámico lateral para terminar en el mismo lado de la FR del tallo cerebral. Estas fibras emergen, probablemente, de todos los segmentos medulares y alcanzan los núcleos gigantocelular, lateral, paramediano de Brodal y, también los tres núcleos pontinos. También el núcleo paramediano recibe fibras de origen espinal, pero en número muy pequeño. Algunas de las fibras espino-reticulares que llegan al núcleo reticular tegmento pontis de Bechterew, son colaterales de las fibras ascendentes que, mezcladas con las fibras piramidales, transcurren en el tracto corticoespinal lateral. Este núcleo reticular lateral del bulbo proyecta, a su vez sobre el vermis cerebeloso, comprendiéndose que las fibras espinoreticulares, núcleo reticular lateral del bulbo y proyecciones de este núcleo sobre el vermis, constituyen una vía espino-retículo-cerebelosa bien definida. Vías similares llegan a los núcleos reticulares paramediano y tegmento pontis.

3) **FIBRAS TECTO-RETICULARES.** Se originan fundamentalmente en los tubérculos cuadrigéminos superiores, son en su mayoría cruzadas y terminan en la FR.

4) **FIBRAS PROCEDENTES DEL CEREBELO.** Proceden del hipotálamo, sistema límbico, núcleo caudado y corteza. Los dos fascículos de proyección del hipotálamo, el sistema fibrilar periventricular y el fascículo longitudinal dorsal de Schultz, emiten colaterales a

la FR en el curso de su trayecto descendente. A través de estas fibras, los impulsos de la zona ergotropa del hipotálamo excitan simultáneamente la FR y los centros vegetativos del neuroeje. La región pródptica envía parte de sus proyecciones a la FR del tegmento mesencefálico. Las aferencias reticulares que proceden del hipocampo llegan a la parte medial de la FR mesencefálica o área límbica reticular de Nauta.

La corteza cerebral está ampliamente conectada con la FR mediante fibras cortico-reticulares. La mayor parte proceden de las regiones frontales (áreas 4, 4s, 6 y 8) de la corteza somestésica, parieto-occipital, primera circunvolución temporal y del uncus.

No se conoce con precisión el trayecto de las fibras cortico-reticulares, pero parece que viajan con las fibras piramidales hasta el mesencéfalo y la unión bulboprotuberancial, donde se separan de aquellas para perderse en la FR, pero de manera especial, en los sectores bulbar y pontino.

Dos regiones de la FR bulbopontina destacan como estaciones terminales de mayor importancia: las regiones que son origen de las proyecciones retículo-espinales inhibitorias y facilitadoras, o sea, los núcleos reticular gigantocelular del bulbo y los pontinos oral y caudal (parte rostral de éste) respectivamente.

Las fibras cortico-reticulares son directas y cruzadas, pero predominan ligeramente las primeras.

Los lóbulos temporal y frontal proyectan a la FR vecina al acueducto de Silvio, al núcleo subtalámico, al campo H2 de Forel y a la sustancia nigra. Estas regiones parecen constituir un campo coordinador de la actividad de los lóbulos cerebrales, porque en ellas se encuentran multitud de neuronas de axón corto que se dirigen hacia la corteza constituyendo vías difusas.

La corteza cerebral ejerce a través de las fibras cortico-reticulares una influencia activadora y una inhibitoria.

Corteza y sistema reticular deben ser considerados - al menos en lo que concierne a ciertos aspectos de sus funcionamientos - como integrados en un sistema único autoregulatorio o circuito cerrado retículo-cortico-reticular. Las fibras corticoreticulares que terminan en la porción craneal del mesencéfalo constituyen, un sistema de freno de la actividad dinamo-génica reticular, pues alcanzan el sector de la FR que está relacionada con la función de la vigilancia y con la facilitación del tono muscular.

La corteza es capaz de controlar la información que le llega de la periferia, actuando sobre centros subyacentes, gracias a sus impulsos corticocéfugos. Por lo que una misma neurona reticular puede recibir fibras aferentes de diversos orígenes, siendo posible por esta razón el registro en un mismo punto de la FR de potenciales evocados por estimulaciones vagales, linguales, cutáneas, olfativas, visuales, auditivas y de diversas áreas corticales.

**CONEXIONES EFERENTES** La FR envía impulsos a diferentes niveles del sistema nervioso: a la médula, al cerebelo y al diencefalo.

a) Las conexiones hacia la médula espinal se establecen a través de los haces reticuloespinales. Se han definido varios fascículos: central, medial y lateral (Papez, 1926), pero es probable que un número considerable de fibras descienden a la

médula mezcladas con otros haces. La proyección reticuloespinal puede ser directa o cruzada. Es interesante el hecho de que la mayor parte de las fibras reticuloespinales provienen de células situadas en la parte medial de la FR bulbar y pontina (Torvik y Brodal, 1957); las de origen pontino son en su mayor parte ipsilaterales y las que proceden del bulbo pueden ser homo o contralaterales. Terminan en los niveles cervicales y torácicos de la médula, en las láminas VII y VIII principalmente. Los haces reticuloespinales transmiten impulsos a las neuronas alfa y gamma de la médula espinal, que a su vez activan fibras extra e intrafusales del músculo estriado, respectivamente. Así mismo los haces reticuloespinales transmiten información en relación con las reacciones viscerales: respiración y funciones cardiovasculares. La única relación que existe entre los niveles de integración visceral del tallo cerebral y los de la médula espinal, se establecen precisamente por las proyecciones reticuloespinales.

b) Las conexiones que la FR envía al cerebelo son al núcleo reticular lateral y reticular paramediano, entre otros.

c) La FR envía impulsos a niveles superiores por medio de fibras que se originan en las partes bulbar, pontina y mesencefálica, de células situadas tanto en la parte lateral como en la medial; sin embargo, son las grandes células de la porción medial las que parecen dar la mayor proporción de fibras ascendentes. Se estima que un número importante de axones reticulares se bifurcan dando origen a una rama ascendente a la médula espinal y otra que se convierte en una fibra ascendente. Las fibras ascendentes se han seguido hasta el hipotálamo, a áreas septales, al área preóptica, al estriado, particularmente a los núcleos caudado y al tálamo. Las fibras reticulotalámicas probablemente ascienden en el área del haz tegmental central (Brodal y Rossi, 1955) y terminan en el núcleo del centro mediano, en los núcleos intralaminares y en el núcleo reticular talámico (Morin, 1953; Scheibel y Scheibel, 1958; Nauta y Kuypers, 1958). Esos núcleos forman parte del sistema reticular talámico que proyecta a la corteza cerebral y sería el equivalente de la FR a nivel del tálamo.

Del estudio de las conexiones aferentes y eferentes de la FR, se infiere su relación prácticamente con todos los niveles de integración neural.

La FR se relaciona con casi todos los sistemas de fibras ascendentes o descendentes que cursan por el tallo cerebral, con los núcleos de los nervios craneales y con otros núcleos intrínsecos del tallo, como la oliva inferior, el núcleo rojo y la sustancia nigra. La conexión de estos últimos es muy estrecha: tanto el núcleo rojo como la sustancia nigra proyectan un número importante de fibras a la FR. Algunos autores han supuesto que ambos núcleos se han segregado o forman parte de dicha estructura, pero este punto de vista no es aceptado por todos los neuroanatomistas.

### 3.2. FISILOGIA

Los correlatos entre el comportamiento y la actividad neuronal de la FR medial del tallo cerebral se concentraron en la respuesta a la estimulación sensorial.

médula mezcladas con otros haces. La proyección reticuloespinal puede ser directa o cruzada. Es interesante el hecho de que la mayor parte de las fibras reticuloespinales provienen de células situadas en la parte medial de la FR bulbar y pontina (Torvik y Brodal, 1957); las de origen pontino son en su mayor parte ipsilaterales y las que proceden del bulbo pueden ser homo o contralaterales. Terminan en los niveles cervicales y torácicos de la médula, en las láminas VII y VIII principalmente. Los haces reticuloespinales transmiten impulsos a las neuronas alfa y gamma de la médula espinal, que a su vez activan fibras extra e intrafusales del músculo estriado, respectivamente. Así mismo los haces reticuloespinales transmiten información en relación con las reacciones viscerales: respiración y funciones cardiovasculares. La única relación que existe entre los niveles de integración visceral del tallo cerebral y los de la médula espinal, se establecen precisamente por las proyecciones reticuloespinales.

b) Las conexiones que la FR envía al cerebelo son al núcleo reticular lateral y reticular paramediano, entre otros.

c) La FR envía impulsos a niveles superiores por medio de fibras que se originan en las partes bulbar, pontina y mesencefálica, de células situadas tanto en la parte lateral como en la medial; sin embargo, son las grandes células de la porción medial las que parecen dar la mayor proporción de fibras ascendentes. Se estima que un número importante de axones reticulares se bifurcan dando origen a una rama ascendente a la médula espinal y otra que se convierte en una fibra ascendente. Las fibras ascendentes se han seguido hasta el hipotálamo, a áreas septales, al área preóptica, al estriado, particularmente a los núcleos caudado y al tálamo. Las fibras reticulotalámicas probablemente ascienden en el área del haz tegmental central (Brodal y Rossi, 1955) y terminan en el núcleo del centro mediano, en los núcleos intralaminares y en el núcleo reticular talámico (Morin, 1953; Scheibel y Scheibel, 1958; Nauta y Kuypers, 1958). Esos núcleos forman parte del sistema reticular talámico que proyecta a la corteza cerebral y sería el equivalente de la FR a nivel del tálamo.

Del estudio de las conexiones aferentes y eferentes de la FR, se infiere su relación prácticamente con todos los niveles de integración neural.

La FR se relaciona con casi todos los sistemas de fibras ascendentes o descendentes que cursan por el tallo cerebral, con los núcleos de los nervios craneales y con otros núcleos intrínsecos del tallo, como la oliva inferior, el núcleo rojo y la sustancia nigra. La conexión de estos últimos es muy estrecha: tanto el núcleo rojo como la sustancia nigra proyectan un número importante de fibras a la FR. Algunos autores han supuesto que ambos núcleos se han segregado o forman parte de dicha estructura, pero este punto de vista no es aceptado por todos los neuroanatomistas.

### 3.2. FISILOGIA

Los correlatos entre el comportamiento y la actividad neuronal de la FR medial del tallo cerebral se concentraron en la respuesta a la estimulación sensorial.

### 3.2.1. CORRELATOS DEL COMPORTAMIENTO Y DESCARGA NEURONAL DE LA FORMACION RETICULAR.

Muchas neuronas de la FR medial responden a una o más modalidades sensoriales. Una de las proyecciones sensoriales más potentes llega al sistema vestibular. La estimulación del nervio vestibular produjo potenciales postsinápticos excitatorios (EPSPs) ó potenciales postsinápticos inhibitorios (IPSPs) en el 75% de las neuronas reticulares mediales. Muchas de las neuronas reticulares mediales pontobulbares reciben proyecciones monosinápticas del núcleo vestibular.

Las respuestas somatosensoriales se han localizado en neuronas de la FR medial; 70% de las neuronas de la FR medial respondieron a la estimulación somática. Este estudio incluye áreas de la FR medial caudal en la coordenada 8 (ver figura 2). Hallazgos similares se han hecho en regiones más anteriores (Amassian y Devito, 1954; Bell et al., 1964; Siegel y McGinty, 1977).

Las neuronas de la médula espinal responden a una variedad de estímulos somáticos y se ha mostrado que proyectan a áreas de la FR medial (Fields et al., 1977). Respuestas específicas a un estímulo vaginal o sexual se han mostrado a través de la FR del tallo cerebral (Hornby y Rose, 1976). La respuesta de grupos celulares de la FR a un estímulo de la vejiga se han reportado en la unión pontomesencefálica (plano AFO) (Bradley y Conway, 1966). Neuronas termosensibles se han hallado en regiones de la FR mesencefálica de AFO a anterior (A) 4 en el gato (Cronin y Baker, 1977) y también en la médula oblongada (Lee y Chai, 1976; Lee et al., 1977). Sólo 70% de las neuronas del bulbo, 72% del mesencéfalo caudal y 18% del mesencéfalo rostral fueron termosensibles (Lee et al., 1977; Cronin y Baker, 1977). Respuestas auditivas en células de la FR se han notado en varios estudios (Amassian y Devito, 1954; Bach-y-Rita, 1964; Ingle y Sprague, 1975). Entre 23% y 40% de células de la FR respondieron a estímulos auditivos discretos (Siegel y McGinty, 1977).

Respuestas visuales en células de la FR son más comunes en regiones anteriores, específicamente en la FR mesencefálica (Bell et al., 1964; Faingold y Caspary, 1977; Groves et al., 1973).

Motokizawa (1974) ha identificado respuestas olfatorias en el 58% de neuronas registradas de la FR.

### 3.2.2. DOLOR

La activación de las neuronas por un estímulo al dolor se ha interpretado como indicador de que las células de la FR medial (de anterior (A) 6.5 a posterior (P) 1 y de P4 a P 18.3 en el gato; la región entre P1 y P4 no se ha explorado; ver figura 2) están relacionadas específicamente con los aspectos sensoriales y motivacionales del dolor (Burton, 1968; Casey, 1971, 1973; Young y Gottschaldt, 1976).

### 3.2.3. DESPERTAR Y ESTADOS DE COMPORTAMIENTO COMPLEJOS

Estudios de correlación entre la actividad unitaria de la FR y el despertar se han explorado en regiones del mesencéfalo de la rata. Los estudios en gatos se han hecho aproximadamente de A4 a P5 (Olds et al., 1969; Vertes y Miller, 1976; Best et al., 1973; Umemoto et al., 1970; Adams, 1968) (ver figura 2).

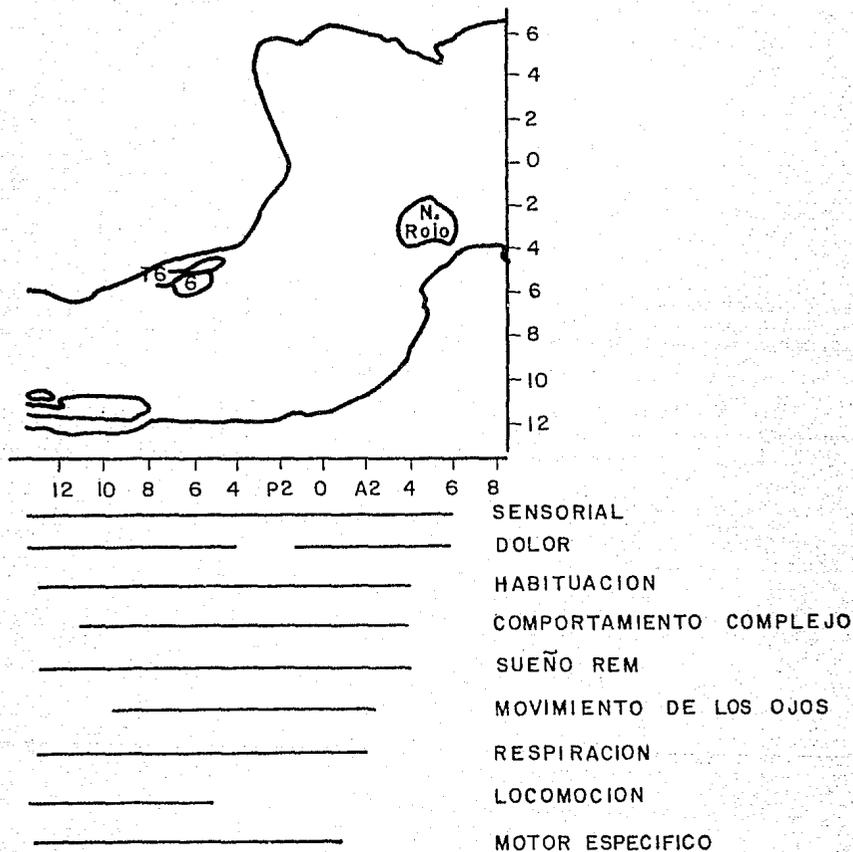


FIG. 2 CORTE SAGITAL DEL TALLO CEREBRAL DEL GATO. LAS BARRAS HORIZONTALES INDICAN LA DISTRIBUCIÓN ANTERO-POSTERIOR DE LAS CÉLULAS IDENTIFICADAS QUE TIENEN FUNCIONES EN COMPORTAMIENTOS ESPECÍFICOS. G, NÚCLEO ABDUCENS; 7G, RODILLA DEL NERVIU FACIAL; I.O., OLIVA INFERIOR.

### 3.2.4. SUEÑO DE MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS

Estudios multiunitarios y unitarios se han hecho en áreas anteriores al mesencéfalo A2-A5 (Balzano y Jeannerod, 1970; Drucker-Colin et al., 1977; Huttenlocher, 1961; Kasamatsu, 1979; Koranyi et al., 1977; Moruzzi y Magoun, 1949; Winters et al., 1967) y en la región del núcleo reticularis pontis oralis-caudalis (RPD-RFC), A1-P4 (Siegel et al., 1978). Esta área ha sido descrita como el área crucial de la FR para el sueño REM (Carli y Zanchetti, 1965; Jouvet, 1962). Virtualmente todas las células de la FR medial (A2-F4) muestran un marcado incremento en la tasa de descarga tanto en el animal con sueño de ondas lentas y en sueño de movimientos oculares rápidos (ver figura 2).

### 3.2.5. MOVIMIENTO DE LOS OJOS

En estudios anatómicos en el mono se ha mostrado que las células que provocan los movimientos oculares no están homogéneamente distribuidas por toda la FR concentrándose en regiones dorsomediales (Luschei y Fuchs, 1972). La distribución de los tipos celulares para el movimiento de los ojos se han mapeado a 3 mm lateral de la línea media (Keller, 1974). En el plano antero-posterior esas células se extienden a - 0.75 mm anterior hasta 3.75 mm posterior al centro del núcleo abducens. Los tipos celulares que descargan con el movimiento de los ojos son similares a los vistos en el mono, encontrándose en posición dorsomedial a la FR en el gato entre P 3.5 y P 9.5 (ver figura 2). La actividad de la FR del gato se ha mostrado que precede al movimiento de los ojos durante el sueño REM. Una variedad de tipos celulares relacionados con el movimiento de los ojos se han visto cerca del núcleo abducens del gato (Gogan et al., 1973).

### 3.2.6. RESPIRACION

Las unidades relacionadas con la respiración se pueden encontrar de P 2.5 a P 11 (Magoun y Rhines, 1946; Vilbert et al., 1976) (ver figura 2).

### 3.2.7. LOCOMOCION

El circuito neural de la locomoción ha sido extensamente estudiado en el gato (Grillner, 1975; Wetzel y Stuart, 1976). Se ha encontrado que la estimulación de una región del mesencéfalo produce rapidez en la locomoción en el gato intacto (Serman y Fairchild, 1966). Esta región locomotora del mesencéfalo (RLM) se ha localizado en el área ventral a los colículos inferiores y predominantemente dorsal al brachium conjunctivum, alrededor del núcleo cuneiforme (Grillner y Shik, 1973; Steeves et al., 1975).

No hay conexiones directas entre la RLM y la médula espinal. Áreas de la médula espinal que contienen proyecciones reticulares muestran una actividad marcada que se incrementa durante la locomoción; se ha hipotetizado que las vías reticuloespinales pueden formar parte de la RLM que induce la locomoción (Orlovskii, 1970). Las neuronas reticuloespinales se identificaron por estimulación antidrómica a nivel L1 de la médula espinal. Orlovskii también observó neuronas reticuloespinales durante la locomoción inducida por remoción cerebelar. Bajo esas condiciones el 62% de las neuronas se activaron durante la locomoción pero únicamente el 8% mostraron

una frecuencia de modulación con la locomoción (Orlovskii, 1970). Tanto la remoción cerebelar y la descerebración bajan la tasa de descarga espontánea de neuronas de la FR. Orlovskii registró las neuronas en el área de P 5 a P 15 y de L 0.5 a L 1.5 (ver figura 2) (Orlovskii, 1970), que incluye regiones mediales del núcleo gigantocelular y el núcleo paramediano. Sólo el 29% de las neuronas reticuloespinales se encontraron activadas por la locomoción. Una modulación similar se ha observado en muchas células del núcleo reticular tegmental pontis (Zangger, 1978). Se ha hipotetizado que el papel de la FR facilita y reorienta la actividad locomotora, generada en la médula espinal (Grillner, 1975).

### 3.2.8. MOVIMIENTOS ESPECIFICOS

Con sólo algunas excepciones, los estudios mencionados han empleado animales a los que se les restringe de movimientos de la cabeza. Siegel y McGinty (1977) estudiaron la actividad de la FR pontina (P4-P8) en gatos en libre movimiento. Reportaron que de 35 células estudiadas se identificaron correlaciones motoras de descarga en 32 células (91%), eso incluye movimientos de cabeza y cuello (n=21), oreja (n=3), escápula (n=2), lengua (n=2) y cara facial (n=3). Cada célula respondió solo a un tipo simple de movimiento. Por ejemplo, las células relacionadas al movimiento de las orejas no incrementaron su descarga durante el movimiento de la cabeza y visceversa. Por lo tanto, una célula dada no descargó en relación a todos los movimientos de la cabeza o a los movimientos de la lengua; cada célula se relacionó a movimientos direccionalmente específicos. Por ejemplo, la descarga celular se encontró relacionada con el lado derecho de la cabeza, o los movimientos de la lengua al lado izquierdo.

Un estímulo natural produjo cambios en la actividad unitaria en el gato no restringido de movimiento; la intensidad de descarga unitaria no se relacionó al estímulo producido. Por ejemplo, la estimulación aplicada a una de las orejas produjo intensa descarga en células relacionadas al movimiento de los ojos localizadas en la FR pontina. Además con más unidades de la FR pontina se observaron descargas a tasas iguales o a un excedente producido por un estímulo más efectivo, durante pequeños movimientos espontáneos.

Para determinar si un estímulo generado por la actividad motora es responsable del movimiento se observó la actividad unitaria de células seleccionadas al azar, que respondieron a un estímulo vestibular, visual, auditivo, o a un estímulo somático sujeto a eliminar o reducir todas las proyecciones sensoriales identificadas. El estímulo vestibular fue eliminado por un sistema restringido de la cabeza. El campo receptivo de células somáticas se anestesió localmente con inyecciones de lidocaína. La entrada visual se eliminó al colocar el gato en una caja con luz escasa. La entrada auditiva se atenuó en células responsivas por bloqueo de los canales auditivos con cera. Las tasas unitarias no se redujeron por los procedimientos. La descarga unitaria física continuó relacionada con la actividad motora visible en el EMG. Concluyendo que la actividad unitaria de la FR pontina está más relacionada al rendimiento motor que a entradas sensoriales (Siegel y McGinty, 1977). La modulación del músculo y

tendón no parece requerir de la activación de la FR pontina. Siegel (1979) ha mostrado que en gatos se incrementa la descarga en la FR pontina y rápidamente realizan movimientos específicos (Breedlove et al., 1979). Los análisis fotográficos de la relación entre movimientos y descarga unitaria han descrito vectores de movimiento específico relacionados a la actividad unitaria (Siegel et al., 1979). Este análisis ha demostrado que estos movimientos ocurren en 50 msec al inicio de la descarga unitaria de la FR pontina. Otros estudios han encontrado relaciones de movimiento similar en las células del NRPO y NRPC (A1-P3) y en la región caudal del bulbo (FB-P14) (ver figura 2).

#### 4. GENERALIDADES DEL CICLO VIGILIA - SUEÑO.

Hasta aquí hemos mencionado el papel de la FR en diversas funciones, pero para la finalidad de este trabajo trataremos a una de esas funciones, el sueño.

El ciclo vigilia-sueño es un fenómeno biológico que sólo se presenta en las especies más evolucionadas de la escala zoológica y está considerado como un ritmo circádico.

El descubrimiento del electroencefalograma (Berger, 1900) abrió un nuevo campo para estudiar el ciclo vigilia-sueño, porque así se pudo establecer una correlación de los patrones electroencefalográficos con las diferentes fases del sueño y la vigilia (Kleitman, 1929; Loomis et al., 1937).

##### 4.1. VIGILIA

###### 4.1.1. ELECTROFISIOLOGIA

El registro poligráfico de un hombre que esté en vigilia manifiesta un ritmo alfa de 8 a 13 cps, en la región parieto-occipital. Durante la vigilia con atención el tono muscular es amplio y con manifestaciones somáticas y vegetativas características de este estado (como la relajación pupilar y contracción de las membranas nictitantes, Jouvet, 1967). En la figura 3 se presenta el registro poligráfico de la vigilia en el gato.

###### 4.1.2. REGIONES ANATOMICAS INVOLUCRADAS EN LA VIGILIA.

Las regiones capaces de alterar la vigilia o el sueño, ya sea por estimulación o por lesión incluyen, el tallo cerebral, tálamo, hipotálamo, región preóptica, banda diagonal de Broca, y la corteza cerebral (para referencias ver Jouvet, 1972).

Se ha propuesto a la formación reticular del tallo cerebral como una de las estructuras responsables del control de la vigilia.

En 1949, Moruzzi y Magoun estimularon la formación reticular mesencefálica con altas frecuencias (100 a 300 pulsos por segundo) produciendo despertar en gatos dormidos y anestesiados; igualmente observaron que la lesión de ésta región suprime la vigilia, proponiendo que el despertar se debe a una influencia activadora ascendente que estimula a la corteza cerebral, surgiendo de aquí el concepto de sistema reticular activador ascendente.

En 1962, Jouvet lesionó la parte dorsal del núcleo reticularis

pontis oralis, y observó que se suprimió el estado de alerta conductual o electroencefalográfico, proponiéndolo como esencial para mantener la vigilia.

#### 4.1.3. NEUROQUIMICA.

Las investigaciones realizadas con el fin de conocer una relación entre los diferentes neurotransmisores que se han involucrado en la vigilia establecen que son la norepinefrina (responsable de la activación electroencefalográfica tónica), la dopamina (responsable de la activación conductual) y la acetilcolina (responsable de la activación local de la corteza; Jouvett, 1972).

#### 4.2. SUEÑO

Von Economo en 1918, reportó somnolencia en pacientes con lesión del hipotálamo rostral. Concluyó, que existía un sistema de sueño en el hipotálamo anterior y un sistema de vigilia en el hipotálamo posterior.

En 1935 Bremer encontró que las secciones mesencefálicas producían que el animal durmiera constantemente, mientras que las secciones de médula permitían al animal alternar entre el sueño y la vigilia. Esto sugirió que el sueño se debía a la participación de influencias tónicas que se originan por detrás del mesencéfalo y por delante de la médula espinal.

El concepto de que el sueño se debía a procesos regulados por el cerebro adquirió mayor preponderancia cuando Hess (1933) demostró que la estimulación del tálamo producía sueño; Nauta en 1946 repitió experimentalmente las observaciones hechas por Von Economo. Cabe mencionar que Nauta sugirió que el sueño era el resultado de una inhibición activa del hipotálamo posterior.

En 1949 Moruzzi y Magoun reportaron que la estimulación a alta frecuencia de la formación reticular del tallo cerebral producía una respuesta electroencefalográfica y conductual similar a la observada normalmente durante el despertar. Esto permitió conceptualizar la existencia en el cerebro de dos sistemas antagonicos, uno de vigilia y otro de sueño.

En 1953, Aserinsky y Kleitman, encontraron que el sueño se acompaña de movimientos oculares rápidos, que ocurrían cuando aparecían ondas electroencefalográficas de bajo voltaje, acompañando a la actividad onírica. Posteriormente se estableció que el sueño se dividía en dos fases, una llamada fase de ondas lentas (SQL) y la otra llamada fase de movimientos oculares rápidos o sueño REM.

A partir de entonces, el concepto de que el sueño se debía a la participación activa de ciertas estructuras cerebrales fue definitiva. A la fecha se puede afirmar que la actividad vigilia-sueño requiere la integridad de una serie de estructuras relativamente identificadas en el tallo cerebral.

El descubrimiento y la localización de vías monoaminérgicas cerebrales en mamíferos desató gran número de hipótesis sobre el posible papel que estos neurotransmisores podrían desempeñar tanto en procesos fisiológicos básicos, como en conductas complejas. Era de esperarse, por tanto, que se investigara la participación de las aminas biogénicas en la regulación del ciclo

vigilia-sueño.

Jouvet (1972) propuso la "teoría monoaminérgica del sueño" cuyos postulados fundamentales son que: 1) el sueño de ondas lentas se inicia por la liberación de serotonina de las neuronas del núcleo del rafe dorsal; 2) el sueño de movimientos oculares rápidos (REM) se inicia por la liberación de serotonina de neuronas del núcleo del rafe caudal, y 3) la ejecución de la fase de sueño REM depende de las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus, mismas que se encargan de preservar las diversas manifestaciones de dicha fase.

#### 4.2.1. SUEÑO DE ONDAS LENTAS

Se le denomina SOL, sueño quieto, sincronizado, o no REM (NREM).

##### 4.2.1.1. ELECTROFISIOLOGIA.

Electroencefalográficamente el sueño de ondas lentas (SOL) en el hombre se divide en fase I, II, III, IV (Dement y Kleitman 1957; Rechtschaffen y Kales, 1968).

Fase I: El ritmo alfa desaparece y se presenta una actividad de 5-7 cps (banda theta) de bajo voltaje. Fase II: Actividad en forma de huso (14-16 cps); aparecen los potenciales de alto voltaje denominados complejos "K" o puntas del vertex. Fase III: Actividad de 0.5 a 2 cps con amplitud de 75 uV (ondas lentas). Fase IV: Actividad delta constante (más del 50 %). Disminución de la actividad muscular (ver la figura 3, donde se presenta el registro poligráfico del SOL).

##### 4.2.1.2. ASPECTOS ANATOMICOS

Usando las técnicas de fluorescencia de Falck, (1964) y de Dahlstrom y Fuxe (1964) se han descrito dos sistemas de neuronas monoaminérgicas en el tallo cerebral. Las neuronas catecolaminérgicas que están localizadas en 12 grupos en la parte lateral del bulbo, puente y mesencéfalo, mientras los cuerpos celulares serotoninérgicos están localizados en 9 grupos en el núcleo del rafe, localizado en el tallo cerebral. Las terminales serotoninérgicas de esos cuerpos celulares han sido localizadas en la médula espinal, en el tallo cerebral y en el cerebro anterior.

La destrucción del núcleo del rafe localizado en el tallo cerebral en gatos conduce a un estado de vigilia (Jouvet, 1965), con un decremento del 80% al 90% del SOL y del sueño REM, durante las primeras dos semanas después de la lesión. La manipulación farmacológica de las monoaminas cerebrales sobre el sueño, hipotetiza que las neuronas monoaminérgicas participan en los mecanismos del sueño. Las lesiones del núcleo del rafe parecen desempeñar un papel en la producción del SOL.

##### 4.2.1.3. NEUROQUIMICA.

Existe una participación de la serotonina (5-HT, 5-hidroxitriptamina) durante el SOL. Si se inhibe la enzima que interviene en la síntesis de la serotonina (triptofano hidroxilasa), administrando la paracloroanfetamina (PCPA), se provoca un estado de insomnio que se revierte administrando dosis

bajas de DL-5-hidroxitriptofano (Delorme et al., 1966; Fujol et al., 1971; Jouvet, 1972).

Administrando reserpina (depletor de catecolaminas y serotonina) se suprimen el SOL de 12 a 14 horas, y si inyectamos el precursor de la 5-HT (5-hidroxitriptofano) se restaura el SOL.

De lo anterior se sugiere que el SOL necesita la presencia de 5-HT en las terminales de las neuronas serotoninérgicas (Delorme et al., 1967).

#### 4.2.2. SUEÑO REM

La primera descripción del sueño se hizo cuando el EEG comenzó a detectarse en experimentos crónicos. Posteriormente se hicieron algunas descripciones de la desincronización cortical (Hess et al., 1953) y del ritmo theta hipocampal (Rimbaud et al., 1953) durante el sueño y hasta 1958 el estado de "sueño lento" fue conocido y estudiado en el gato, teniendo caracterizado definitivamente la recurrencia periódica del sueño activado y con movimientos rápidos de los ojos. Este estado de sueño fue interpretado como una fase intermedia entre el SOL y el despertar. Después se demostró que este sueño de ondas rápidas podía ser indicado por una actividad eléctrica subcortical específica (espigas pontinas) y criterios de postura específicos (atonía total) demostrando su origen rombencefálico, para tratar de probar la hipótesis de que éste es un estado de sueño diferente (Jouvet 1959).

Las observaciones se hicieron con correlaciones EEG y de comportamiento (Benoit y Bloch, 1960; Hubel, 1960; Jouvet et al., 1960), observándose una actividad cortical rápida (Jouvet y Michel, 1959) en el gato.

##### 4.2.2.1. ASPECTOS CONDUCTUALES

FENOMENO SOMATICO: Al contrario del SOL que tiene criterios de comportamiento imprecisos, el sueño REM tiene los siguientes fenómenos clasificados en tónicos y fásicos.

Atonia: La completa supresión del tono muscular de los músculos antigravitatorios, es manifestación de la inhibición del tono muscular típico de sueño REM (Jouvet et al., 1959).

Movimientos clónicos: los fenómenos fásicos típicos del sueño REM son los movimientos oculares que se considerarán posteriormente. Sin embargo, hay otros movimientos fásicos que acompañan el desarrollo del sueño REM en gato, como son los movimientos de las orejas, de las vibrisas y de los dedos (Gassel et al., 1964), y algunas veces de sacudidas clónicas genuinas de los músculos del dorso.

##### FENOMENOS VEGETATIVOS

En el gato aparece una disminución de la presión sanguínea durante el sueño REM (Candia et al., 1962; Gassel et al., 1964; Kanzow et al., 1962), que puede ser interrumpida por pequeñas fases hipertensivas durante las descargas de los movimientos oculares. Esto se acompaña de una gran irregularidad en la frecuencia cardíaca (bradicardia o taquicardia), observándose (Jouvet, 1962) cuando el sueño REM es inducido por estimulación del tallo cerebral (Candia et al., 1962). Los mecanismos de esta

baja de presión son desconocidos, pero se sabe que no es dependiente de la hipotonía muscular. Existen también variaciones respiratorias que consisten en una irregularidad e incremento en el ritmo, observándose apenas al final del sueño REM (Jouvet, 1962).

#### 4.2.2.2. ASPECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS

El sueño REM en gatos adultos normales toma lugar después de un periodo variable de SOL. Es posible reconocer el sueño REM por la actividad cerebral eléctrica de dos componentes del sueño REM: el tónico (actividad cortical rápida y actividad regular hipocámpal theta) y el fásico (actividad de espigas ponto-geniculado-occipital asociadas con el movimiento rápido de los ojos; ver figura 3 en donde se presenta el registro poligráfico durante el sueño REM del gato).

##### ACTIVIDAD TÓNICA

La actividad tónica cortical es rápida, de voltaje de 20-30 ciclos/seg), similar a la desincronización cortical que acompaña al despertar (Buendia et al., 1963; Okuma et al., 1963; Tokizane, 1965).

La aparición de una actividad continua theta en el hipocampo ventral y dorsal es característica (Cadilhac et al., 1962; Grastyan, 1961; Jouvet, 1962; Lena, 1964; Okuma, 1963; Parmeggiani et al., 1963) en esta fase del sueño.

##### ACTIVIDAD FÁSICA

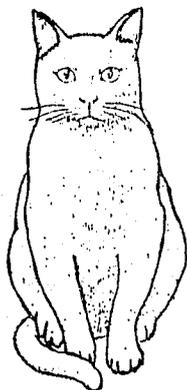
Hay una relación estrecha entre la actividad eléctrica fásica y el sistema oculomotor.

Los movimientos rápidos de ojos aparecen al comienzo de la activación cortical, de 60 a 70 movimientos en un minuto, su patrón es capaz de distinguirse de los movimientos observados durante la vigilia (Jeannerod y Mouret, 1965).

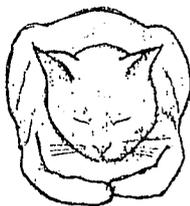
La miosis es máxima (Jouvet 1962) y las membranas nictitantes están relajadas. Una midriasis repentina con retracción de las membranas nictitantes puede acompañar a las descargas de movimientos oculares (Berlucchi et al., 1965; Hodes, 1964).

El análisis de las estructuras responsables de los movimientos rápidos aislados, han dado los siguientes resultados (Jeannerod et al., 1965): en el gato pontino sólo se observan los movimientos laterales (dependen del VI nervio); en la región mesencefálica del gato (colículos superiores intactos) la descarga de movimientos oculares persiste. Por lo contrario, la coagulación de una zona localizada a nivel de los colículos superiores y del tegmento mesencefálico en el animal intacto suprime las descargas. Esas descargas están muy incrementadas en el animal decorticado. Pero el papel de la corteza no es inequívoco, porque la remoción de la corteza visual fuertemente redujo el movimiento de los ojos y sus descargas, mientras una decorticación frontal produjo un marcado incremento de esas descargas.

Se ha demostrado que la destrucción del núcleo vestibular medial y descendente suprime las salvas de movimientos oculares rápidos del sueño REM, el movimiento aislado de los ojos estuvo presente durante el sueño REM. El núcleo vestibular medial



Vigilia



Sueño ligero



Sueño paradójico

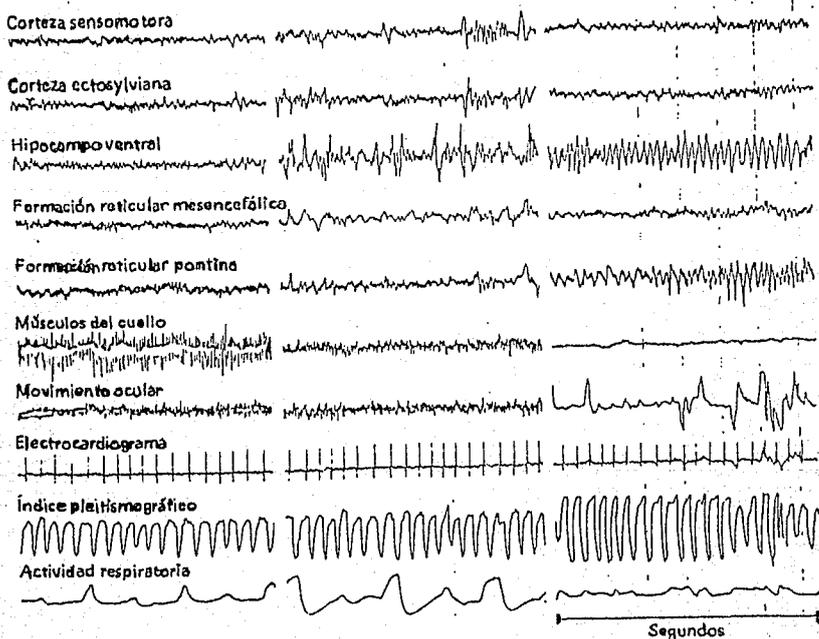


FIG. 3 REGISTRO POLIGRÁFICO DE LA VIGILIA, DEL SUEÑO DE ONDAS LENTAS Y DEL SUEÑO REM. OBSÉRVESE LA SEMEJANZA ENTRE EL REGISTRO CORTICAL DURANTE LA VIGILIA Y EL SUEÑO REM, ASÍ COMO LA APARICIÓN DEL RITMO THETA HIPOCAMPAL, DE LA ACTIVIDAD TÍPICA DEL PUENTE, DE LA PÉRDIDA DEL TONO MUSCULAR, LA PRESENCIA DEL SUEÑO REM E IRREGULARIDAD DE LA FRECUENCIA CARDIACA Y RESPIRATORIA DURANTE ESTE ÚLTIMO (TOMADA DE JOUVET, 1967).

incrementa su actividad durante el sueño REM (Bizzi et al., 1964) aparentando un control más del fenómeno fásico del sueño REM (Morrison et al., 1965).

Los resultados apoyan la hipótesis de que los movimientos oculares se descargan a nivel del núcleo vestibular, donde están involucrados los colículos superiores y el tegmento mesencefálico.

#### ACTIVIDAD ELECTRICA FASICA PONTINA-GENICULO-OCCIPITAL.

Se han descrito a nivel de la formación reticular pontina (Jouvet, 1959), espigas monofásicas de 200-300  $\mu$ V con una duración de 100 mseg, y con ocurrencia en grupos de 5-6, se observaron a nivel del núcleo geniculado lateral (Buendia et al., 1963; Mikiten et al., 1961), a nivel de la corteza occipital (Mouret et al., 1963), a nivel de los colículos superiores y del núcleo del III par (Michel et al., 1964; Brooks et al., 1963), de la corteza pulvinar y la parietal (Hobson et al., 1974).

Las espigas fásicas del puente y del geniculado fueron los primeros signos eléctricos que anunciaban la aparición de un episodio del sueño REM. Pueden aparecer 1-2 minutos antes de la activación cortical y de la desaparición del EMG del cuello (Brooks et al., 1963; Michel et al., 1964) y algunas veces ocurren durante el SOL en un 5% y con frecuencia de 60-70 espigas por minuto durante el sueño REM.

La latencia entre los potenciales monofásicos pontinos y los potenciales geniculados es corta (5 mseg) (Bizzi y Brooks, 1963). Las respuestas evocadas en el geniculado tienen el mismo patrón de espigas espontáneas que pueden ser evocadas (efecto gating) a través de la estimulación de la formación reticular pontina durante el sueño REM (cuando tienen una latencia de 25-35 mseg) (Bizzi et al., 1963), pero es imposible evocar respuestas en el geniculado a través de la estimulación del puente durante el despertar o durante el SOL.

La relación entre la actividad fásica (FGO) y los movimientos oculares no es sencilla: porque ni la completa remoción de los ojos y de los músculos extraoculares (Michel et al., 1964) suprimió la aparición de espigas PGO (al menos durante 2 ó 3 días después de la operación). Por lo tanto, esta actividad no puede ser considerada dependiente del movimiento ocular.

La actividad fásica aparece 30 ó 90 segundos antes de los movimientos oculares, en el comienzo del sueño REM. Los datos anteriores están en favor del comienzo de una proyección pontina ascendente a nivel del geniculado lateral y de la corteza occipital. Se han notificado entradas similares de tipo extraretinal al cuerpo geniculado lateral, esto después de una estimulación en la formación reticular mesencefálica. En comparación, con las lesiones de la corteza occipital se pueden mostrar signos de degeneración a nivel de la formación reticular pontina (núcleo del rafe y núcleo reticularis pontis caudalis; Escobar et al., 1963), así se favorece la existencia de un sistema de proyección entre el puente y la corteza visual.

La compleja organización de la entrada extraretinal del cuerpo geniculado lateral puede existir, además es muy probable que las terminales del tracto óptico estén involucradas en la génesis de espigas monofásicas del geniculado.

#### 4.2.2.3. EL TALLO CEREBRAL Y SU CONTROL SOBRE LOS EVENTOS DEL SUEÑO REM.

La investigación de un centro de sueño REM en el tallo cerebral, ha retardado la consideración del papel de un núcleo del tallo cerebral específico en el control de los eventos individuales del sueño REM. Las evidencias indican que cada uno de los eventos del sueño REM son generados por distintos grupos de células localizadas a nivel del puente y mesencéfalo caudal. Recientes hallazgos muestran que 1) la desincronización cortical del sueño REM es controlada por la FR mesencefálica. 2) El ritmo theta por el núcleo pontino de la FR, el pontis oralis. 3) La atonia muscular por el área peri-locus coeruleus (LCa). 4) Las espigas PGD primariamente por el área "X". 5) El movimiento rápido de los ojos por el peri-abducens de la FR. 6) Las sacudidas musculares por el núcleo gigantocelular y la parte caudal del núcleo pontis caudalis. 7) Respuestas cardiorespiratorias por el complejo peribraquial.

#### DESINCRONIZACION CORTICAL

Aunque los primeros estudios indicaron el papel de grupos celulares pontinos en la producción de la desincronización cortical durante el sueño REM - pontis caudalis (Jouvet, 1962), pontis oralis (Carli y Zanchetti, 1965) y el locus coeruleus (LC) (Jouvet 1969, 1972) - esos hallazgos no han sido confirmados. Se ha mostrado que ni el LC (Hobson et al., 1975; Foote et al., 1980; Aston-Jones y Bloom, 1981) ni las neuronas de la FR (Hobson et al., 1974; Vertes, 1977, 1979; Siegel et al., 1977) descargan en asociación directa con el EEG, y la destrucción de esas mismas áreas no produce ninguna alteración significativa en la desincronización cortical durante el sueño REM (Jones et al., 1977; Sastre et al., 1981). Steriade et al. (1982) registraron en la FR mesencefálica una población de células que tienen una participación importante en la desincronización de la vigilia y del sueño REM. Esas células tienen una descarga elevada, con tasas tónicas en asociación a la desincronización EEG durante la vigilia y el sueño REM y reciben múltiples entradas sinápticas de tipo excitatorio, proyectadas a sitios talamocorticales implicados en el control del EEG y descargan con latencias apropiadas a los cambios en el EEG. La región del cerebro implicada en la desincronización cortical del sueño REM, incluye una gran área del tegmento central del mesencéfalo que se extiende a la parte ventral del núcleo cuneiforme (ver figura 4).

#### RITMO THETA DEL HIPOCAMPO

Varios núcleos fuera de la FR se han implicado en la generación del ritmo theta del hipocampo. En recientes reportes en la rata, el tallo cerebral y el diencefalo (Vertes, 1981) fueron mapeados con estimulación, llegando a la conclusión de que el núcleo pontis oralis fue la región de la FR más efectiva para producir el ritmo theta. El pontis oralis se encontró que no es un sitio generador efectivo en el gato (Macadar et al., 1974). Aunque el ritmo theta puede ser producido por estimulación del mesencéfalo (Klemm, 1972; Macadar et al., 1974; Robinson y Vanderwolf, 1978), esos efectos parecen resultar de la activación

de fibras ascendentes de paso de la FR pontina (Vertes, 1981). La descarga de células del núcleo pontis oralis, designadas como células tónicas MOV-REM, se encontraron fuertemente correlacionadas con el ritmo theta del hipocampo (Vertes, 1979). Estudios de registro multiunitario de la FR pontina en el conejo (Klemm, 1970) y en perro (Arnolds et al., 1977) han identificado células con características de descarga asociadas al ritmo theta. La actividad de las neuronas en otras regiones del tallo cerebral como el LC (Hobson et al., 1975; Foote et al., 1980; Aston-Jones y Blom, 1981) y el rafe medial (Sheu et al., 1974; Rasmussen et al., 1982) parecen no estar relacionadas al ritmo theta hipocampal. La región que genera el ritmo theta abarca una gran área del tegmento pontino central, el cual incluye el núcleo pontis oralis y el núcleo caudalis rostral, núcleos que juntos también se denominan FTG (ver figura 4).

#### ATONIA

En contraste a los primeros estudios (Jouvet y Delorme, 1965; Roussel et al., 1967; Jouvet, 1972) se sugirió que el LC era el principal núcleo del tallo cerebral involucrado en la atonía del sueño REM; reportes recientes (Henley y Morrison, 1974; Sastre et al., 1978; Sakai, 1980; Fung et al., 1982; Hendricks et al., 1982) identificaron el sitio crítico para la atonía como la parte dorsolateral del núcleo pontis oralis, el cual ha sido designado como peri-LCa por Sakai (1980). El papel del peri-LC en la atonía está apoyado por lo siguiente: 1) lesiones en el peri-LC, pero no en el LC, producen una pérdida de la atonía (Henley y Morrison, 1974; Sastre et al., 1978) (ver figura 4).

2) Un gran porcentaje de neuronas del peri-LCa descargan selectivamente durante la atonía del sueño REM (Sakai, 1980).

3) Una vía directa (tracto tegmento-reticular) se ha mostrado que proyecta del peri-LC al área inhibitoria bulbar de Magoun y Rhines (1946) (Sakai et al., 1979; Sakai, 1980), que ejerce un efecto tónico inhibitorio en las motoneuronas espinales durante el sueño REM (Sakai, 1980; Chase et al., 1981; Fung et al., 1982).

4) Lesiones selectivas del tracto tegmento-reticular suprimen la atonía del sueño REM (Hendricks et al., 1982). El peri-LC, está localizado ventromedial al LC en el puente dorsolateral.

El fenómeno del sueño REM sin atonía fue descrito originalmente por Jouvet y Delorme (1965) y subsecuentemente explorado por Morrison et al. (Henley y Morrison, 1974; Morrison 1979; Hendricks et al., 1982). El sueño REM sin atonía parece involucrar dos mecanismos - la remoción de la supresión motora y la liberación de varios comportamientos. Como demostró Hendricks et al. (1982), los tipos específicos de comportamiento durante el sueño REM depende del sitio de lesión pontina.

#### ESPIGAS PGO

Se ha mostrado que las ondas PGO se originan del tegmento pontino dorsolateral en la región que rodea el brachium conjunctivum (BC) en la rata (Gottesman, 1969; Farber et al., 1980; Marks et al., 1980; Kaufman y Morrison, 1981) y en gato (Brooks y Bizzi, 1963; Brooks y Gershon, 1971; Laurent y Guerrero, 1975; Bowker y Morrison, 1976; ver figura 4). La lesión

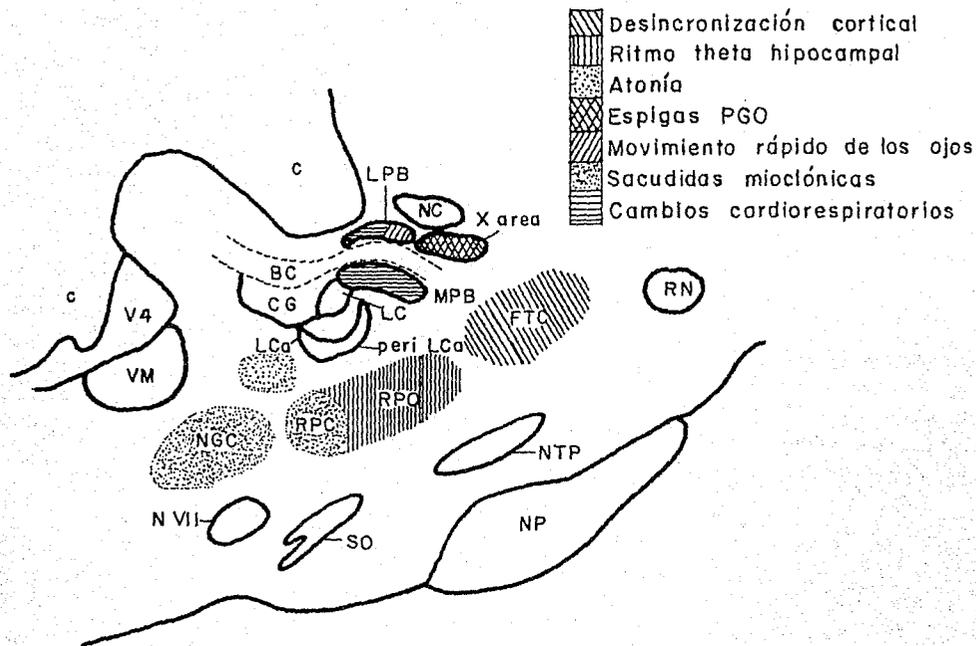


FIG. 4 SECCIÓN PARASAGITAL DEL TALLO CEREBRAL DE GATO (APROXIMADAMENTE 3.0 mm LATERAL A LA LÍNEA MEDIA) MOSTRANDO LA LOCALIZACIÓN DE LOS GRUPOS CELULARES INVOLUCRADOS EN EL CONTROL DE LA MAYOR PARTE DE LOS EVENTOS DEL SUEÑO REM. CON EXCEPCIÓN DEL PERIABDUCENS QUE ES MEDIAL AL PLANO DE LA SECCIÓN, CADA UNA DE LAS ÁREAS MOSTRADAS ESTÁN LOCALIZADAS APROXIMADAMENTE EN EL PLANO SAGITAL. ABREVIATURAS: BC, BRACHIUM CONJUNCTIVUM; C, CEREBELO; CG, SUSTANCIA GRIS CENTRAL; FTC, CAMPO TEGMENTAL CENTRAL; LC, LOCUS COERULEUS; LCA, LOCUS COERULEUS PARES ALFA; LPB, NÚCLEO LATERAL PARABRAQUIAL; MPB, NÚCLEO MEDIAL PARABRAQUIAL; NC, NÚCLEO CUNEIFORME; NGC, NÚCLEO GIGANTOCELULAR; NP, NÚCLEOS DEL PUENTE; NTP, NÚCLEO TEGMENTAL PONTINO; N-VII, NÚCLEO FACIAL; PERI-LCA, PERI-LOCUS COERULEUS, PARES ALFA; RN, NÚCLEO ROJO; RPC, NÚCLEO PONTIS CAUDALIS; RPO, NÚCLEO PONTIS ORALIS; SO, OLIVA SUPERIOR; VM, NÚCLEO VESTIBULAR MEDIAL; V4, CUARTO VENTRÍCULO.

alrededor del BC elimina las ondas FGO. Las neuronas que descargan las ondas FGO se han descrito en la región del BC (Saito et al., 1977; McCarley et al., 1978; Sakai y Jouvet, 1980; Sakai, 1980; Nelson et al., 1983). La mayoría de las neuronas parecen estar localizadas en el área "X", dorsolateral al BC (Sakai, 1980; ver figura 4) pero también han sido identificadas en la parte rostral del núcleo parabrachial lateral y en el núcleo tegmental laterodorsal (LDT) (Saito et al., 1977; Sakai y Jouvet, 1980; Sakai, 1980).

Los potenciales de campo pueden ser registrados como las espigas FGO (puente, núcleo geniculado lateral, y corteza occipital) durante el movimiento de ojos en la vigilia y han sido designados potenciales de movimiento ocular (PMO) (Brooks y Gershon, 1971). Aunque los PMO fueron originalmente relacionados, pero separados del fenómeno de ondas FGO (Brooks, 1968), Bowker y Morrison (1976) mostraron que bajo condiciones de vigilia alerta las características de los PMO son virtualmente idénticas a los de las ondas FGO. Recientes estudios han indicado un substrato pontino común para la generación de los PMO y de las ondas FGO (Laurent y Guerrero, 1975; Sakai y Jouvet, 1980; Nelson et al., 1983). Morrison (1979) propuso que la función de las ondas FGO y de los PMO, es incrementar la transmisión en el sistema visual bajo condiciones de alerta, cuando se necesita mayor agudeza visual.

#### MOVIMIENTO RAPIDO DE LOS OJOS

Se conoce que la FR del tallo cerebral controla el movimiento de los ojos (EMs) en gatos (Highstein et al., 1976; Hisosaka y Kawakami, 1977; Hikosaka et al., 1978; Igusa et al., 1980; Curthoys et al., 1981; Kaneko et al., 1981; Yoshida et al., 1982) y en monos (Goebel et al., 1971; Sparks y Travis, 1971; Cohen y Henn, 1982; Cohen y Komatsuzaki, 1972; Lus chei y Fuchs, 1972; Keller, 1974; Henn y Cohen, 1976) durante la vigilia. Recientes estudios en el gato (Igusa et al., 1980; Curthoys et al., 1981; Kaneko et al., 1981) han mostrado que hay neuronas que descargan en la parte dorsomedial de la FR pontina caudal, anterior al núcleo abducens (área peri-abducens; ver figura 4). Aunque la actividad de neuronas en el área peri-abducens no se ha analizado durante el movimiento rápido de los ojos del sueño REM, Siegel y Tomaszewski (1983) han observado la relación de los PMO en esta región durante el sueño REM en el gato, y Pompeiano et al., (Hoshino et al., 1976; Pompeiano, 1980) describieron una población de células en la región peri-abducens con actividad localizada a las descargas individuales del movimiento de los ojos en gatos descerebrados. Las células en la parte central del tegmento pontino (no en el área peri-abducens) se ha mostrado que descargan con una latencia grande, precedida de los EMs del sueño REM (Hoshino et al., 1976; Pivik et al., 1977) y probablemente no están directamente involucradas en generar movimiento de los ojos (por ejemplo elementos pre-motores del EMs) pero pueden participar en el cambio de dirección de los ojos de lado a lado durante el sueño REM como sugirió Pompeiano (1980).

### SACUDIDAS MUSCULARES

Pompeiano y col. demostraron en sus primeros estudios (Marchiafava y Pompeiano, 1964; Gassel et al., 1964, 1965) que el sistema reticuloespinal y no otros tractos espinales descendentes son responsables de las sacudidas musculares durante el sueño REM.

En ratas en movimiento, Vertes (1977, 1979) identificó un tipo de células en la FR pontobulbar, designándolas como neuronas fásicas del MOV-REM, que descargan en asociación con movimientos específicos (sacudidas) del sueño REM y movimientos idénticos durante la vigilia. Neuronas con propiedades similares se han descrito en el gato (Siegel et al., 1977). La mayoría de las neuronas "fásicas MOV-REM" han sido localizadas en la región caudal del puente y rostral del bulbo (Vertes, 1977, 1979; Siegel et al., 1977; ver figura 4). Se han mostrado proyecciones directas de esta área pontobulbar a las motoneuronas espinales (Holstege et al., 1977; Peterson et al., 1979; Martin et al., 1981; Panneton y Martin, 1983).

### RESPUESTAS CARDIORESPIRATORIAS

Aunque los mecanismos del sistema nervioso central controlan las funciones respiratorias y cardiovasculares estas son complejas; hay evidencias que sugieren que las fluctuaciones cardiorespiratorias del sueño REM son grandes y son mediadas por el complejo parabraquial (ver figura 4). Las células del complejo parabraquial medial corresponden al centro pneumotáxico (Bertrand y Hugelin, 1971; Cohen, 1971; St. John et al., 1971; Bertrand et al., 1973; Knox y King, 1976) demostrándose que cambios en su actividad, correlacionan con las fluctuaciones respiratorias del sueño REM (Lydic y Drem, 1979; Sieck y Harper, 1980; Mraovitch et al., (1982) encontraron que la estimulación restringida al complejo parabraquial produjo una elevación significativa en la presión sanguínea y en la frecuencia cardíaca, llamada respuesta presora parabraquial. Sieck y Harper (1980) registraron neuronas parabraquiales en el gato y describieron una población de células que descargan en asociación con el ciclo cardíaco durante el sueño REM. También reportaron que la actividad de neuronas mediales parabraquiales está correlacionada con el ciclo respiratorio y el cardíaco proponiendo que esas células pueden servir para integrar respuestas respiratorias y cardiovasculares durante el sueño REM.

### INVESTIGACION DE UN CENTRO DEL TALLO CEREBRAL EN EL CONTROL DEL ESTADO DE SUEÑO REM.

En base a una serie de estudios (Jouvet y Michel, 1959; Jouvet, 1962; Jouvet y Delorme, 1965; Roussel et al., 1967; Jones et al., 1969; Burguet et al., 1970), Jouvet propone la teoría clásica monoaminérgica para el control del ciclo vigilia-sueño (Jouvet, 1969, 1972). Los elementos esenciales de esta teoría fueron que el SOL está controlado por células del núcleo del rafe, que contienen serotonina y que esos eventos y estados del sueño REM son propiciados por neuronas noradrenérgicas del LC. Varios trabajos seguidos del reporte inicial de Jouvet et al. confirmaron el papel del LC en la generación del sueño REM ó de

sus eventos (Fanskepp et al., 1973; Lidbrink, 1974; Howard y Breese, 1974; Hobson et al., 1975; Jones et al., 1977; Jacobs y Jones, 1978; Sakai, 1980; Jones, 1979; Ramm, 1979; Foote et al., 1980; Aston-Jones y Bloom, 1981; Vertes, 1982). Recientemente se ha demostrado que el sueño REM permanece intacto, después de lesiones electrolíticas del LC (Jones et al., 1977), por destrucción farmacológica de neuronas noradrenérgicas del LC (Lidbrink, 1974; Howard y Breese, 1974) y de células del LC que descargan con baja frecuencia durante el sueño REM (Hobson et al., 1975; Foote et al., 1980; Aston-Jones y Bloom, 1981). Las regiones que circundan al LC participan en la generación de tres funciones asociadas al sueño REM: atonía muscular (peri-LC); espigas PGO (primariamente en el área "X") y respuestas respiratorias (complejo parabraqial). Sin embargo, cada uno de esos eventos no son mediados por neuronas que contienen catecolaminas y no involucran el LC (Bertrand y Hugelin, 1971; McCarley et al., 1978; Sastre et al., 1978, 1981; Sakai y Jouvét, 1980; Sakai, 1980; Sieck y Harper, 1980; Mraovitch et al., 1982).

Varios trabajos de Jouvét y col. apoyan el papel del LC en la descarga del sueño REM (Jouvét, 1962; Jouvét y Delorme, 1965; Roussel et al., 1967; Jones et al., 1969; Buguet et al., 1970). Es concebible que algunos efectos originalmente atribuidos al LC pueden ser el resultado de algún daño a regiones cercanas. En una serie de lesiones experimentales hechas por Jouvét (1972) se muestra que están limitadas a la atonía del sueño REM, acompañado del área peri-LC que suprime las espigas PGO.

## 5. ACETILCOLINA Y SUEÑO

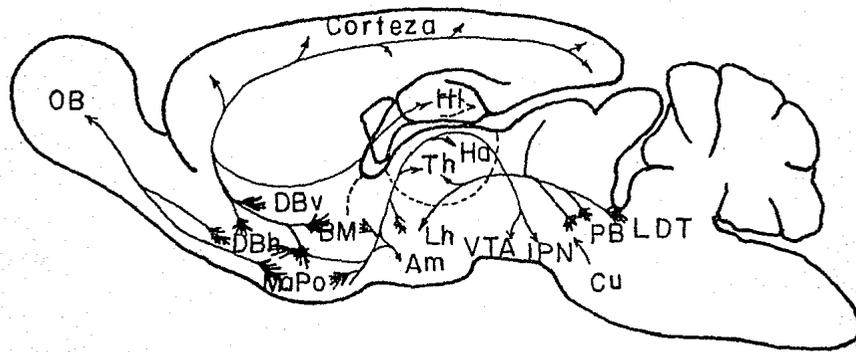
Las evidencias sugieren que hay neuronas colinoceptivas en el tallo cerebral que están involucradas en las manifestaciones del sueño REM. Es interesante recalcar que existen evidencias de una red difusa de neuronas colinoceptivas de la formación reticular pontina (FRP), que inician y mantienen el sueño REM. A la fecha no se conoce el origen de la entrada colinérgica a estas neuronas colinoceptivas, ni tampoco se conoce la identidad química de esas neuronas. El que se lleven a cabo esos mecanismos colinérgicos tiene un papel importante en el inicio y mantención del sueño REM, porque coincide con el aumento de los signos del sueño REM.

### 5.1. LA ORGANIZACION NEUROANATOMICA DEL SISTEMA COLINERGICO

La acetilcolina es un neurotransmisor en el sistema nervioso central. Recientemente, métodos inmunohistoquímicos se han utilizado para marcar la colina-acetiltransferasa. Usando esta técnica Mesulam y cols. (1983) han identificado 6 grupos colinérgicos (ver figura 5).

Los grupos colinérgicos 1 y 2 se ubican en el núcleo septal medial y en el núcleo del brazo vertical de la banda diagonal respectivamente. Las neuronas de esos dos grupos inervan el hipocampo. El grupo colinérgico 3 está parcialmente contenido en el núcleo del brazo horizontal de la banda diagonal e inerva el bulbo olfatorio.

La gran colección de células colinérgicas está localizada en el núcleo basal de Meynert y en el núcleo del asa lenticular, en el núcleo del asa peduncular y en la lámina medular del globo pálido y substancia innominata. Esas neuronas colinérgicas son



- |     |   |      |                               |
|-----|---|------|-------------------------------|
| AM  | Amígdala  | IPN  | Núcleo interpeduncular        |
| BM  | Núcleo basal magnocelular                       | Lh   | hipotálamo lateral            |
| Cu  | Núcleo cuneiforme                               | LDT  | Núcleo laterodorsal tegmental |
| DBh | Rama horizontal del núcleo de la banda diagonal | MaPo | Núcleo preóptico magnocelular |
| DBv | Rama vertical del núcleo de la banda diagonal   | OB   | Bulbo olfatorio               |
| Ha  | Núcleo habenuar                                 | PB   | Núcleo parabraquial           |
| Hi  | Hipocampo                                       | Th   | Tálamo                        |
|     |   | VTA  | Zona ventral tegmental        |

FIG. 5 TRACTOS COLINÉRGICOS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (MODIFICADO DE FIBIGER, BRAIN RES. REV., 1982) DE LA RATA.

del grupo 4 y es la vía principal de la inervación colinérgica de la amígdala y neocórtex.

En el tallo cerebral, la gran colección de células colinérgicas se encuentran en el núcleo pontino peduncular (grupo 5), que bordea el brachium conjunctivum y el núcleo laterodorsal tegmental (grupo 6), medial al locus coeruleus. Estos dos grupos, forman la vía colinérgica ascendente de Lewis y Shute (Lewis, et al., 1967; Wilson, 1985), que inerva el tálamo, hipocampo y córtex del cíngulo.

En el tallo cerebral, las neuronas colinérgicas se han encontrado en el núcleo del tracto solitario.

## 5.2. ACETILCOLINA Y COMPONENTES TONICOS Y FASICOS DEL SUEÑO REM.

### 5.2.1. ACETILCOLINA Y DESINCRONIZACION CORTICAL

Los mecanismos colinérgicos parecen desempeñar un papel importante en la desincronización cortical. Administrando sistémicamente atropina, un antagonista colinérgico, se producen ondas lentas de baja amplitud, igual que en la vigilia. La infusión local de agonistas colinérgicos como el carbacol, betanecol u oxotremorina en la FR incrementa la desincronización cortical (Baghdoyan et al., 1984; George et al., 1964).

### 5.2.2. ACETILCOLINA Y MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS

Los estudios de lesión (Morrison et al., 1966) indican que el núcleo vestibular puede estar involucrado en el movimiento rápido de los ojos que ocurre durante el sueño REM. Las evidencias que apoyan esta hipótesis son los cambios fásicos en la frecuencia de descarga de las neuronas vestibulares durante el sueño REM en gatos intactos (Bizzi et al., 1984), y en animales agudos descerebrados tratados con agentes que potencian la acetilcolina como la fisostigmina (Thoden et al., 1972). Además Merger y Pompeiano (1977), mostraron que el incremento en la descarga de neuronas vestibulares del núcleo medial y núcleo abducens, que inerva los músculos laterales rectos del ojo, se incrementa de 11-15 mseg antes de la activación en el músculo lateral recto. Con lesiones vestibulares, se provoca la supresión de los grupos de neuronas que descargan los movimientos oculares rápidos pero no interfiere con los movimientos aislados, con el movimiento ocular lento ó con el sueño REM per se.

La excitación en las motoneuronas del núcleo vestibular y del núcleo abducens puede ser generado por un núcleo localizado en la FR paramediana. Las unidades reticulares descargan antes del movimiento rápido de los ojos (Cohen y Henn, 1972; Keller, 1974; Luschei y Fuchs, 1972; Sparks y Travis, 1971). Además, las células del campo tegmental gigantocelular (FTG) muestran cambios cíclicos en la descarga antes del movimiento rápido de los ojos, tanto en animales intactos (Pivik et al., 1977), como en descerebrados tratados con agentes que potencian la acetilcolina (Hoshino y Pompeiano, 1976; Pompeiano, 1980).

### 5.2.3. ACETILCOLINA Y ONDAS FGO

Las neuronas responsables de los potenciales FGO parecen ser colinérgicas ó al menos colinoceptivas. Al aplicar atropina se redujeron significativamente las ondas FGO (Henrisken et al., 1972), mientras la fisostigmina provoca espigas FGO en gatos con transecciones en el colículo ó en el puente (Magherini et al., 1971), las microinfusiones de carbacol en el tegmento pontino dorsolateral incrementan la actividad FGO (Baghdoyan et al., 1984; Shiromani et al., 1983).

La regulación de las ondas FGO no esta exclusivamente bajo control colinérgico, porque existen entradas noradrenérgicas y serotoninérgicas del LC y del rafe dorsal (NRD), los cuales se ha propuesto que inhiben a las neuronas colinérgicas que producen las ondas FGO (Sakai, 1980). Las evidencias de la influencia inhibitoria fueron apoyadas por estudios de estimulación eléctrica del NRD que inhibe las ondas FGO (Jacobs et al., 1973), mientras que las lesiones del NRD inducen la actividad FGO (Sakai, 1985). La disminución de los niveles de serotonina o norepinefrina también inducen la actividad FGO (Sheu et al., 1974). Las neuronas del NRD y las del LC disminuyen su actividad justo antes o en continuidad temporal con la actividad FGO (McGinty et al., 1976; Sheu et al., 1974).

Las evidencias farmacológicas y electrofisiológicas confirman que la actividad FGO se descarga en el área "X" (Sakai, 1985); porque usando la técnica de marcación retrógrada se demostró que las neuronas del área "X" proyectan directamente al núcleo geniculado lateral, marcándose positivamente para la colinaacetiltransferasa (ChAT), que es un marcador específico de neuronas colinérgicas. De lo anterior se ha deducido que las neuronas del área "X" reciben aferencias serotoninérgicas y noradrenérgicas del NRD y del LC respectivamente.

### 5.2.4. ACETILCOLINA Y ATONIA

Los mecanismos colinérgicos también se han implicado en el fenómeno de la atonia. La infusión de carbacol en el tegmento pontino induce cataplexia en gatos (Baghdoyan et al., 1984; Shiromani et al., 1983; Shiromani et al., 1984; Katayama et al., 1984; Mitler y Dement, 1974; Shiromani y McGinty, 1986; Van Dongen et al., 1978). En gatos agudos descerebrados, la infusión sistémica de fisostigmina indujo cataplexia. En perros narcolépticos, la administración sistémica de colinomiméticos precipitó episodios de cataplexia, mientras que los agentes muscarínicos los bloquean o retrasan, y los agentes nicotínicos no tienen efecto (Baker y Dement, 1985; Delashaw et al., 1979). Además la colina-acetiltransferasa (ChAT) se encontró en esas áreas (Kimura et al., 1981; Armstrong et al., 1983; Kimura y Maeda, 1982).

### 5.2.5. ACETILCOLINA Y GENERACION DEL SUEÑO REM.

Aunque la formación reticular puede ser responsable de la generación de los componentes tónicos y fásicos del sueño REM, se sugiere que los mecanismos colinoceptivos de la FR pontina se inician en varios núcleos de la FR. El sistema colinérgico fue el primero en implicarse en la generación del sueño REM.

Jouvet (1962) hipotetizó que los mecanismos colinérgicos desempeñan una función en la generación del sueño REM.

Sin embargo, cuando se desarrolló la técnica de histofluorescencia de Falck - Hillarp (Dahlstrom y Fuxe, 1964) se reveló que hay vías monoaminérgicas originadas en varias regiones del tallo cerebral, que fueron implicadas en el despertar, en el SOL y en el sueño REM. El hallazgo de que el sistema monoaminérgico inerva casi todo el cerebro y la médula espinal, sugirió que este sistema está involucrado en cambios difusos electrofisiológicos asociados con el ciclo vigilia-sueño.

La dopamina, norepinefrina y serotonina tienen un papel importante en el sueño y en el despertar (Jouvet, 1972; Jacobs y Jones, 1978). Esos neurotransmisores están implicados en la regulación del sueño REM, pero no están directamente involucrados en la generación de éste, además se hipotetiza que esos neurotransmisores tienen un control inhibitorio en el sistema neuronal difusamente representado y responsable de la iniciación y conservación del sueño REM (Hobson y Steriade, 1986). Sin embargo, muy poco se conoce acerca del sistema que genera el sueño REM.

En estudios farmacológicos se ha mostrado que los mecanismos colinérgicos en la FR pontina medial juegan un papel importante en la generación del sueño REM. Por ejemplo, en gatos y en ratas la administración de agonistas colinérgicos, como el carbacol, directamente en la FR pontina evoca elementos del sueño REM (atonía, ondas PGO, movimiento rápido de los ojos) o completo sueño REM, que puede ser muy duradero (Baghdoyan et al., 1984; George et al., 1964; Shiromani et al., 1983; Silberman et al., 1980; Shiromani y McGinty, 1986; Mitler y Dement, 1974; Amatrudda et al., 1975; Hobson et al. 1983).

Recientemente Shiromani y McGinty (1983) encontraron que algunas neuronas mediales de la FR pontina incrementan su descarga durante el sueño REM inducido con carbacol. La FR pontina medial parece ser única porque los cambios en la presión arterial durante el sueño REM inducido con carbacol (cuando las infusiones de carbacol se hacen en la FR medial) son similares a los que ocurren durante el sueño REM fisiológico (Shiromani y McGinty, 1986). Durante el sueño REM se incrementa la liberación de acetilcolina en la corteza (Celestia et al., 1966; Jasper y Jessier, 1971) y en el estriado (Gadea et al., 1973). En el hombre, las infusiones intravenosas de fisostigmina o arecolina durante el SOL decrecen la latencia a sueño REM, aunque infusiones durante o inmediatamente después del sueño REM producen despertar (Sitaram et al., 1976, 1982).

La inducción colinomimética del sueño REM normal puede ser mediada por la activación de receptores muscarínicos, porque la escopolamina y la atropina bloquean los receptores muscarínicos e inducen con colinomiméticos el sueño REM (Baghdoyan et al., 1984; Shiromani et al., 1983; Shiromani, 1986; Sitaram et al., 1980). Numerosos estudios farmacológicos implican mecanismos colinérgicos en la generación del sueño REM, sin embargo, sólo indican que las neuronas sensitivas a la acetilcolina pueden generar sueño REM. También se mostró que algunas neuronas de la FR pontina medial, muestran un incremento progresivo en la descarga de la vigilia al sueño REM (Shiromani y McGinty, 1986).

Previamente Sakai (1980) identificó algunas neuronas como "REM-on", sugiriendo que son importantes para la generación del sueño REM, en el momento que muestran un incremento de su descarga relacionada con el sueño REM.

Pocos, o casi ningún cuerpo celular colinérgico se localizó en la FR pontina medial. Por lo tanto, el sistema de control localizado en la FR pontina medial responsable de la generación del sueño REM, aparentemente no está mediado por neuronas colinérgicas intrínsecas de la FR pontina.

Como una hipótesis alterna, se sugiere que existe una entrada colinérgica extrínseca a esas neuronas colinoceptivas, durante el sueño REM en la FR pontina. Así la FR pontina medial puede representar la vía final de una secuencia de eventos originados en otra parte.

De esta manera se puede determinar la fuente de esas entradas colinérgicas a la FR pontina medial. Dos grupos colinérgicos son la fuente posible de aferencias colinérgicas a la FR pontina medial. El primero es un grupo de células colinérgicas localizadas en el pedúnculo pontino (PPG) y en grupos localizados en el campo lateral dorsal (LDT). Esas células forman la más grande colección de células colinérgicas en la FR pontina (Kimura et al., 1981; Mesulam et al., 1983; Armstrong et al., 1983; Satoh et al., 1983); además se considera que el sueño REM se origina en la FR pontina.

Esos dos grupos forman la vía colinérgica ascendente de Shute y Lewis (Lewis et al., 1967; Wilson, 1985), que inerva el tálamo, hipocampo, hipotálamo y corteza cingulada (Mesulam et al., 1983; Coyle et al., 1983; Wilson, 1985; Saper y Loewy, 1982; Sofroniew et al., 1985). El PPG y el LDT pueden también ser componentes del sistema reticular activador ascendente descrito por Moruzzi y Magoun (Moruzzi y Magoun, 1949). Muchas evidencias indican que células colinérgicas del PPG y del LDT tienen un papel importante en algunos componentes tónicos y fásicos del sueño REM. Por ejemplo, Steriade et al., (1980) sugieren que la activación EEG durante la vigilia y el sueño REM pueden ser el resultado de una activación tónica de un sistema colinérgico ascendente en el centro del núcleo reticular rostral. Steriade et al. (1980) sugieren que el mesencéfalo-tálamo-corteza sirven de influencia al sistema reticular activador ascendente. Con la microinfusión del carbacol en las porciones rostrales del PPG se induce un comportamiento para mantener el despertar, que se caracteriza por la desincronización EEG (Baghdoyan et al., 1984; Shiromani y McGinty, 1986). Esto indica que la acetilcolina es liberada de la corteza cerebral durante el sueño REM (Jasper y Tessier, 1971). La actividad PGO es otro componente del sueño REM que se hipotetiza que esta bajo control de células colinérgicas del PPG y el LDT (Sakai, 1980; Sakai, 1985). Algunas neuronas del PPG y el LDT descargan antes y simultáneamente a las ondas PGO, algunos investigadores sugieren que esas neuronas son ejecutoras de las ondas PGO (Nelson et al., 1983; Sakai, 1980; Sakai, 1985). Finalmente, la atonía muscular que acompaña al sueño REM puede ser resultado de neuronas colinérgicas descendentes en porciones más medio-caudales del PPG localizado en el núcleo subcoeruleus y locus coeruleus-alfa (Sakai, 1980; Sakai, 1985; Glenn et al., 1978).

La otra posible fuente de aferencias colinérgicas a la FR pontina medial son las células colinérgicas del prosencéfalo basal. Si se hace una transección rostral a este nivel no se eliminan los estados del sueño REM en el puente, lo que postula Shiromani et al. (1987), es que las entradas colinérgicas del prosencéfalo basal u otros sitios rostrales pueden ejercer una modulación en el control del sueño REM. Esta región con el rafe, se considera que es uno de los sitios somnogénicos (McGinty et al., 1968).

Las lesiones electrolíticas (McGinty et al., 1968) y otras con ácido kainico en el prosencéfalo basal producen un insomnio duradero, y la estimulación eléctrica produce sueño (Serman et al., 1962). Szymusiak y McGinty (1985) encontraron que algunas neuronas del prosencéfalo basal descargan durante el sueño. La identidad química de estas neuronas es desconocida. Muchos investigadores han examinado las proyecciones ascendentes de las neuronas colinérgicas. Las proyecciones descendentes del prosencéfalo basal no se han examinado, pero estudios de marcación retrógrada, demostraron que hay proyecciones del prosencéfalo basal a la FR pontina en ratas (Shammah-Lagnado et al., 1985). Sin embargo, esos estudios no determinan si las neuronas colinérgicas inervan la FR pontina. Esto es muy importante, considerando que el prosencéfalo basal representa un centro somnogénico, mientras la FR pontina es importante para el despertar y el sueño REM. La acción recíproca entre células colinérgicas del prosencéfalo basal y células colinoceptivas de la FR pontina medial pueden ser responsables de la transición regular de la vigilia al SOL y después al sueño REM. Por ejemplo, Shiromani et al. (1987) notaron que algunas neuronas del prosencéfalo basal descargan selectivamente durante el sueño no-REM (NREM). Si esas neuronas son colinérgicas, cuando incrementan su descarga durante el sueño NREM podrían liberar acetilcolina en la FR pontina medial y principalmente en la FR pontina medial que tiene neuronas colinoceptivas responsables del sueño REM. Subsecuentemente, la acción recíproca entre sistemas neuronales colinérgicos, aminérgicos, y otras neuronas químicamente no identificadas en el puente, pueden ser responsables de la iniciación y mantenimiento del sueño REM (McCarley y Hobson, 1975).

Igualmente se sugirió que las principales entradas de neuronas colinoceptivas de la FR pontina medial pueden tener una propiedad intrínseca para exhibir una tonicidad o mostrar un patrón de descarga similar al visto en las neuronas talámicas (Llinás y Jahnsen, 1982;). Greene y McCarley (1986) reportaron en rebanadas pontinas, el patrón de descarga de neuronas de la FR pontina medial, encontrándose una similaridad con neuronas talámicas.

## 6. MODELO DE INTERACCION RECIPROCA

Recientes estudios de los estados de vigilia y sueño fueron realizados buscando su origen en centros neurales. El concepto de centros neurales es un caso especial de tendencia a la localización de la estructura cerebral que domina los estados de comportamiento. Este concepto fue hecho por Hess (1933), quien postuló centros de vigilia y sueño en el diencefalo y Bremer (1935) sugirió que la vigilia y el sueño eran regulados

intrínsecamente en el tallo cerebral. Los estudios del despertar hechos por Moruzzi y Magoun (1949), del sueño NREM por Moruzzi (1960) y del sueño REM por Jouvét (1962), postularon regiones cerebrales específicas. Esas hipótesis fueron usadas eurísticamente porque se enfocaban en los mecanismos fisiológicos que median los estados de comportamiento. Tales hipótesis fueron limitadas, y aún las técnicas de estimulación eléctrica y de lesión fueron incapaces de determinar los mecanismos celulares y moleculares involucrados en el disparo y mantenimiento de los estados de comportamiento.

Gradualmente se reemplaza el concepto de centros regulatorios discretos que controlan el sueño y la vigilia, por el concepto que emerge de la interacción dinámica entre poblaciones neuronales.

La noción de poblaciones neuronales funcionalmente distintas fueron hechas por Hess (1933), por el concepto trofotrófico (colinérgico) y ergotrófico (aminérgico) en el hipotálamo. Este concepto se aplicó al estado de comportamiento y se concretó en el trabajo de Jouvét (1962), quién incorporó los datos anatómicos de histofluorescencia de la escuela Suiza (Dahlstrom y Fuxe 1964) sugiriendo que cada estado era controlado por un grupo celular aminérgico específico (Jouvét, 1969). Muchas de las neuronas químicamente específicas se encontraron en el tallo cerebral (Morgane y Stern, 1974); la idea de un sistema anatómicamente distribuido se implicó en formulaciones hechas por Jouvét sobre el control del ciclo del sueño.

El concepto de población neuronal se ha reforzado por evidencias recientes, obtenidas con registro de la actividad eléctrica neuronal y sus cambios asociados con el sueño REM o alguna de sus manifestaciones. En contraste con el concepto de centros neurales, el concepto de poblaciones neuronales comenzó a ser considerado, cuando los patrones de descarga de la actividad unitaria se extendieron a neuronas concentradas en ciertas regiones cerebrales. Algunos grupos de células pudieron atraer la atención por sus patrones de descarga durante un estado específico de comportamiento. Esto se ha encontrado en recientes investigaciones sobre los mecanismos del tallo cerebral que controlan los estados de comportamiento de la vigilia y el sueño. Por ejemplo, durante el sueño REM algunas neuronas descargan más (células REM-on) y algunas neuronas cesan su descarga (células REM-off).

Las poblaciones generadoras del sueño REM incluyen neuronas que pueden actuar como iniciadoras o efectoras de un estado de comportamiento. Las neuronas moduladoras del sueño REM conducen la respuesta de una célula a varias entradas. De esa manera, se puede modificar el modo de descargar de las neuronas.

El propósito es trazar el concepto y evolución de la teoría neurofisiológica del sueño, observando la transición del concepto de centros a poblaciones neuronales. Aquí se tomará un enfoque de las evidencias consideradas en el modelo matemático y celular de los estados de control y de comportamiento de los mamíferos, y el modelo de interacción recíproca entre neuronas del tallo cerebral supuestamente colinérgicas y aminérgicas (Hobson et al., 1975; McCarley y Hobson, 1975). El modelo de interacción recíproca del control del sueño considera la actividad neuronal

espontánea, continua y periódica. Esas propiedades formales de la actividad neuronal son las que probablemente tienen mayor relevancia en el control del comportamiento.

#### 6.1. LA SUPUESTA POBLACION GENERADORA.

1) Identificación y características de las células REM-on.

Durante el sueño REM, se han registrado neuronas en varias regiones del cerebro y se ha demostrado que están activadas a un nivel menor o superior, como lo que se observa en el estado de vigilia (Steriade y Hobson, 1976). Muchas neuronas son del tipo REM-on y es lógico proponer que un vasto conjunto de células constituyen la población que finalmente actúa como efectora de los signos fisiológicos del sueño REM. No está todavía determinada una zona neuronal que inicie el proceso de reclutamiento para las manifestaciones fisiológicas del sueño REM.

Los mecanismos neuronales que se consideran para la generación del sueño REM, fundamentalmente incluyen la excitación tónica o fásica de neuronas sensoriales y motoras a muchos niveles del sistema nervioso central (SNC) durante el sueño, observándose que los componentes de ésta vasta red mejoran la aparición de los signos del sueño REM, es por lo tanto difícil decir con certeza que una u otra parte del sistema tienen un papel de disparador del proceso excitatorio que inicia el episodio del sueño REM. La defensa inicial de esta idea es que las neuronas del campo tegmental gigantocelular (FTG) son ejecutoras del sueño REM.

#### A) EL FTG.

Los estudios iniciales de descarga celular durante el sueño REM, sugirieron que el FTG puede constituir una zona disparadora que inicia el sueño REM (Hobson et al., 1974; McCarley y Hobson, 1975). La hipótesis de que el FTG constituye el generador del sueño REM, es el centro de la discusión y debate formulado por el modelo de interacción recíproca, esta hipótesis está lejos de ser verídica en su totalidad, porque se ha demostrado que la selectividad de la descarga neuronal del FTG, no se limita al sueño REM. En animales que se mueven libremente esas células pontinas, semejan a otras células del SNC, que descargan intensamente en asociación a movimientos particulares de la vigilia así como durante el sueño REM (Vertes, 1977). También se ha demostrado que las lesiones con ácido kaínico en la FR pontina destruyen las células del FTG pero no previene el sueño REM (Sastre et al., 1981; Drucker-Colin y Bernal-Pedraza, 1983). Estos hallazgos reforzaron la noción de que la población de células REM-on está anatómicamente distribuida y que solo grandes lesiones pueden eliminar todas las manifestaciones del sueño REM (Jones, 1979).

El descubrimiento de la selectividad de la descarga del sueño REM, caracterizado por células del FTG, y sólo en animales restringidos de movimiento vence la suposición original de que la población del FTG es la fuente generadora o ejecutora esencial del sueño REM. Este hallazgo también apoya la idea de que el FTG es el único, dentro de muchos sistemas neuronales motores superiores, que está activado durante el sueño REM. La relación entre la descarga del FTG y ciertos movimientos musculares no

rechaza que la activación del FTG y otros sistemas neurales motores durante el sueño REM, puedan estar involucrados en la generación de muchos eventos del sueño REM (por ejemplo, el movimiento rápido de los ojos, la contracción muscular y ondas PGO) (Hobson y col., 1986).

Todos los datos apoyan la teoría de que las células del FTG están dramáticamente activadas en el sueño REM; numerosos estudios han indicado la importancia de su activación. Desafortunadamente, los mecanismos celulares de activación del FTG durante el sueño REM son inexplicables para poder establecer una relación entre movimientos específicos, estado de vigilia e inactivación del FTG. Es prematuro concluir que la activación del FTG esté relacionado enteramente con la descarga normal del sueño REM.

Ninguna de esas hipótesis alternativas ha sido apoyada por estudios intracelulares. Análisis intracelulares de las neuronas del FTG, han demostrado que estas células están despolarizadas antes y durante el sueño REM (McCarley e Ito, 1983; Ito y McCarley, 1984). McCarley (1978) ha enfatizado este punto al que ha denominado "selectividad de modulación", con la finalidad de dar una idea de la despolarización de todo el FTG, y no de subpoblaciones que ayudan a movimientos particulares del sueño REM.

Aunque las lesiones con ácido kainico claramente mostraron que las células del FTG de la FR pontina no son necesarias, ni suficientes para iniciar el sueño REM, los resultados están en desacuerdo con el hallazgo consistente de que el FTG rostral, cuando es estimulado farmacológicamente, funcione como una zona crítica en el disparo de los signos electrográficos del sueño REM (Baghdoyan et al., 1984; Drucker-Colin y Bernal-Pedraza, 1983).

Un desafío de la interpretación del sueño REM es en parte causado por las descargas del FTG, basándose en hallazgos de que las neuronas del FTG descargan durante movimientos de vigilia y no durante el sueño REM (Vertes, 1977). Una observación clave es que el cambio en la descarga de neuronas del FTG precede a la aparición del sueño REM. La descarga del FTG antes del sueño REM es difícil explicarla, porque hay una pequeña normalidad o inactividad motora durante la primera transición al sueño REM. Cambios similares en la descarga del FTG no se han reportado durante la transición de sueño a vigilia.

La segunda razón para continuar considerando la hipótesis de que el FTG rostral es una de las regiones donde el sueño REM se puede generar, es porque el tegmento pontino anterodorsal es el único sitio del tallo cerebral que semeja un estado de comportamiento parecido al sueño REM que se ha inducido farmacológicamente (Baghdoyan et al., 1982; 1984).

## 6.2. NATURALEZA COLINERGICA DE LAS CELULAS

El postulado colinérgico de la identidad de las neuronas se ha confirmado en numerosas áreas del tallo cerebral donde las células REM-on se han registrado. Sin embargo, se ha identificado electrofisiológicamente que las células REM-on pueden ser colinérgicas. Aunque no ha sido posible demostrar la presencia de acetilcolina (ACh), la identificación inmunohistoquímica de la enzima sintética colinacetiltransferasa (ChAT) se ha mostrado que

es un marcador puntual para células colinérgicas (Cuello y Sofroniew, 1984). Kimura et al. (1981) propusieron la identidad colinérgica de las células del FTG pontino. El estudio mostró que grandes células en el FTG rostral se marcaron fuertemente para la ChAT y Kimura et al. (1981) sugirieron que esas células son colinoceptivas y colinérgicas. Sin embargo, la naturaleza colinérgica de las células del FTG pontino parecen confirmarse por el uso de un anticuerpo monoclonal para la ChAT. La densidad de células positivas para la ChAT en el FTG y en el campo tegmental medial (FTM), se han encontrado en la médula más que en la extensión pontina de esos campos reticulares (FTG, campo tegmental lateral y FTM) (Kimura et al., 1981).

### 6.3. LA POBLACION MODULADORA DEL SUEÑO REM.

#### 1. Identidad y características de las células REM-off.

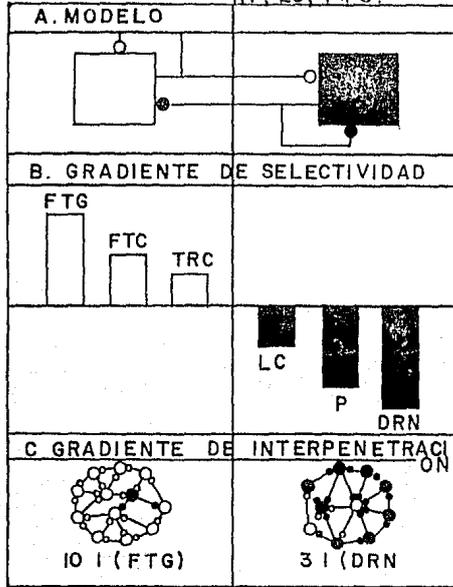
El modelo de interacción recíproca propone que las células del LC tienen niveles de actividad más bajos durante el sueño REM y son un componente permisivo del supuesto oscilador del ciclo del sueño (Hobson et al., 1975; McCarley y Hobson, 1975). Estas células REM-off del LC se postuló que ejercían una inhibición tónica en la población de células REM-on en el FTG por liberación de la norepinefrina. La revisión de la hipótesis de interacción recíproca adquiere un enfoque en base a los nuevos datos que indican que: a) La población de células REM-off se encuentra más distante de lo que originalmente se supuso (ver figura 6) b) Al menos los neurotransmisores adrenalina y serotonina pueden sumarse para mediar la acción moduladora postulada para las células REM-off; c) La interpenetración de las células REM-off y REM-on, parece ser que ocurre en muchas regiones del tallo cerebral.

Las células REM-off fueron descritas en el núcleo del rafe dorsal (NRD) (McGinty y Harper, 1976), a la vez se descubrieron en el LC (Hobson et al., 1973; Chu y Bloom, 1974). Las células REM-off se han encontrado en numerosas regiones del cerebro, esto incluye a los núcleos supuestamente serotoninérgicos como el núcleo linear central y central inferior (Hobson et al., 1983), el rafe pontis (Heyme et al., 1982), rafe palido (Sakai et al. 1983), rafe magno (Cespuoglio et al., 1981) y en la supuesta zona noradrenérgica llamada región peribraquial del tegmento pontino dorsolateral (Saito et al., 1977; Sakai, 1980). Hay también un conocimiento somero de las células REM-off en el hipotálamo (referido por Glotzbach y Heller), en la FR bulbar (Sakai et al., 1983), en el campo tegmental central de la FR pontina (Hobson et al., 1983) donde la identidad química de las células REM-off es incierta.

La suposición de la identidad aminérgica se basa en las distintas características de las espigas (McGinty y Harper, 1976; Aston-Jones y Bloom, 1981), en la proximidad de los sitios registrados de las células REM-off para células noradrenérgicas identificadas histoquímicamente en el LC (Chu y Bloom, 1974) y en detención de la descarga después de la administración de agentes farmacológicos que mejoran la autoinhibición serotoninérgica en el rafe (Gallager y Aghajanian, 1976). Ninguno de esos puntos constituye con certeza, la prueba positiva de la transmisión aminérgica. Lo más importante es la evidencia que apoya la naturaleza noradrenérgica de las células REM-off que resulta de los hallazgos de que las células del LC del mono son una población exclusivamente noradrenérgica, que exhibe el patrón de descarga REM-off (Foote et al., 1983). La idea del cese de la descarga de las células REM-off antes y durante el sueño REM pueden servir para liberar a las neuronas REM-on de las células aminérgicas, esto se apoya por evidencias que sugieren que la norepinefrina y la serotonina son neurotransmisores inhibitorios (Gallager y Aghajanian, 1976; Foote et al., 1983). Sin embargo, las proyecciones axonales de muchas neuronas REM-off no indican una densa inervación de las regiones reticulares (Sakai, 1980). Es bien conocido que las neuronas aminérgicas proyectan a

Células REM-on  
FTC, FTG, FTL

Células REM-off  
DRN, LIn. Cent,  
RP, LC, F.T.C.



○ EXCITATORIO ● INHIBITORIO

FIG. 6 RELACIÓN ENTRE LA INTERPENETRACIÓN Y LA SELECTIVIDAD. EL ESQUEMA ILUSTRAS LA RELACIÓN HIPOTETIZADA ENTRE LA SELECTIVIDAD FISIOLÓGICA (B) Y LA INTERPENETRACIÓN ANATÓMICA (C) DE LAS CÉLULAS REM-on (COLUMNA DE LA IZQUIERDA) Y DE LAS CÉLULAS REM-off (COLUMNA DE LA DERECHA) CUYAS INTERCONEXIONES RECÍPROCAS SE REPRESENTAN EN A. LAS CÉLULAS REM-on SON NEURONAS QUE TIENEN UNA TASA DE DESCARGA MAYOR DURANTE EL SUEÑO REM, QUE EN VIGILIA Y EN SUEÑO NREM. LAS CÉLULAS REM-off SON NEURONAS QUE TIENEN UNA FRECUENCIA DE DESCARGA MAYOR DURANTE LA VIGILIA Y SUEÑO NREM. LAS NEURONAS INHIBITORIAS ESTÁN REPRESENTADAS POR CÍRCULOS NEGROS; LAS NEURONAS EXCITATORIAS SE REPRESENTAN POR CÍRCULOS BLANCOS. EL MODELO (A) MUESTRA QUE LAS CÉLULAS REM-on ESTÁN EXCITADAS MIENTRAS LAS CÉLULAS REM-off ESTÁN INHIBIDAS. LA SELECTIVIDAD ES DEFINIDA COMO LA TASA DE DESCARGA DE UNA POBLACIÓN DADA EN EL SUEÑO REM, SIENDO RELATIVO A LA TASA DE DESCARGA DURANTE LA VIGILIA EN MOVIMIENTO.

NÓTENSE QUE LOS VALORES DE SELECTIVIDAD POSITIVOS DE LA POBLACIÓN REM-ON, Y LOS VALORES SIGNIFICATIVAMENTE NEGATIVOS DE LAS POBLACIONES REM-OFF FORMAN UN GRADIENTE CONTINUO. LA INTERPENETRACIÓN (C) DE LAS CÉLULAS EXCITATORIAS E INHIBITORIAS EN UN NÚCLEO DADO PUEDE DETERMINAR EL GRADIENTE DE SELECTIVIDAD MOSTRADO EN B, PORQUE LAS PROPORCIONES DE LAS CÉLULAS REM-ON Y REM-OFF EN UN NÚCLEO CORRELACIONAN CON LA TASA DE SELECTIVIDAD. EN EL EJEMPLO SE MUESTRA QUE LAS CÉLULAS REM-OFF POR 10 A 1 EN EL ÁREA CON LA SELECTIVIDAD POSITIVA MÁS GRANDE (EJEMPLO EN FTG), MIENTRAS LAS CÉLULAS REM-OFF EXCEDEN A LAS CÉLULAS REM-ON POR 3 A 11 EN EL NÚCLEO CON SELECTIVIDAD NEGATIVA MÁS GRANDE (EJEMPLO EL DRN).

ABREVIATURAS: NÚCLEO REM-ON.- FTG: CAMPO TEGMENTAL GIGANTOCELULAR; FTC: CAMPO TEGMENTAL CENTRAL; FTL: CAMPO TEGMENTAL LATERAL; TRC: NÚCLEO RETICULAR TEGMENTAL, NÚCLEO REM-OFF.- DRN: NÚCLEO DEL RAJE DORSAL; LIN CENT: CENTRALIS LINEARIS; RM: RAJE MAGNO; RP: RAJE PONTIS; LC: LOCUS COERULEUS; P: REGIÓN PERIBRAQUIAL.

regiones remotas del tallo cerebral, especialmente la corteza cerebral y la médula espinal (Azmitia y Segal, 1978). En efecto, las proyecciones de las células REM-off no son exclusivas de las zonas REM-on, indicándose que las estructuras involucradas se encuentran distribuidas anatómicamente, y no solo a nivel del tallo cerebral sino en todo el cerebro. La posibilidad de una distribución anatómica de las poblaciones de células REM-off y REM-on da un concepto de que la interacción recíproca está distribuida en un gran campo de acción (ver figura 6), (Hobson et al., 1975; McCarley y Hobson, 1975). Un ejemplo que ilustra las implicaciones funcionales de la interacción recíproca entre sistemas distribuidos anatómicamente, es el movimiento de los ojos que se presenta durante el sueño REM, que es generado por neuronas premotoras de la FR del tallo cerebral y por otras que proyectan a neuronas oculomotoras (Henn et al., 1984).

La interpenetración de las células REM-on y REM-off en el tallo cerebral de gato, puede estar asociada con el grado en el cual ambas poblaciones presentan patrones de descarga selectivo para un estado de comportamiento dado (ver figura 6).

#### 6.3.1. DESACTIVACION DE LAS CELULAS REM-off: INFERENCIAS DERIVADAS DE DATOS CORRELATIVOS.

De acuerdo al modelo de interacción recíproca, el hecho de que la descarga de las células REM-off desinhiba a las células REM-on desempeña un papel crítico para determinar el estado del sueño REM.

El NRD representa un sitio ideal para probar esa hipótesis ya que ha sido mostrado que: a) existe una concentración grande de serotonina en el cerebro (Dahlstrom y Fuxe, 1964), b) es la mayor fuente de serotonina del cerebro anterior (Azmitia y Segal, 1978). Además las neuronas del NRD muestran una descarga regular durante la vigilia, y un cese de la descarga durante el sueño REM. En estudios farmacológicos se ha revelado que hay una descarga de tipo REM-off en el NRD durante el sueño REM inducido por inyecciones pontinas de carbacol (Steinfels et al., 1983).

Finalmente, se ha mostrado que el NRD exhibe un patrón de descarga REM-off, en registros de un día. Similarmente, si se revisan los estudios celulares de descarga del NRD durante el sueño REM fisiológico, hay un cese lento de la descarga del NRD (McGinty y Harper, 1976; Heym et al., 1982; Hobson et al., 1983). Este decremento en el patrón de descarga, parece representar uno de los hallazgos más consistentes en la neurofisiología del sueño. Con lo mencionado se apoya fuertemente la hipótesis de que el NRD juega un papel causal para modular la organización temporal del sueño REM o en desinhibir los generadores de signos específicos del sueño REM, como son la atonía muscular u ondas PGO. Sin embargo, existe la posibilidad de que los patrones de descarga REM-off pueden estar causalmente relacionados con el sueño REM.

El análisis de la descarga del NRD y el registro simultáneo de ondas PGO reveló que estas ondas descargan por periodos largos mientras el NRD acorta su tiempo de descarga. Estos hallazgos fueron consistentes con la evidencia que sugiere que los niveles de descarga del NRD modulan el tiempo de las ondas PGO.

Se ha revelado que aunque la descarga del NRD es de naturaleza REM-off, hay una fase dependiente que incrementa la descarga del NRD, que ocurre durante las últimas fases del ciclo de sueño antes de la vigilia (Lydic et al., 1984, 1985). Esos datos apoyan la hipótesis de que el NRD está causalmente involucrado en la modulación de la organización temporal del ciclo sueño ultradiano y/o eventos específicos del sueño REM, como ondas PGO ó el tono muscular.

Se ha demostrado que la descarga del NRD es mayor cuando el FTG se estimula durante la vigilia. La estimulación del FTG durante el sueño SOL es moderada mientras la descarga del NRD no se afectó, cuando la estimulación del FTG se aplicó durante el sueño REM (Lydic et al., 1983).

Todas esas observaciones apoyan la interacción entre el NRD y el FTG durante el sueño REM. Sin embargo, se apoya que la excitabilidad de las neuronas REM-off no es constante durante el ciclo vigilia-sueño. A esto, el modelo de interacción recíproca no tiene respuesta. Sin embargo, Hobson et al. (1986) dan una explicación proponiendo que un mecanismo inhibitorio activo se dirige al rafe, o bien la inhibición es mediada por una interneurona no identificada. Estudios farmacológicos han mostrado que los niveles de actividad del NRD pueden ser diferencialmente modificados por colinómiméticos que actúan centralmente y periféricamente (Steinfels et al., 1983). Los mecanismos gabaérgicos también son conocidos porque influyen en la actividad del rafe (Gallager y Aghajanian, 1976; Nishikawa y Scatton, 1983), pudiéndose sugerir algún papel en el mecanismo REM-off. Numerosos péptidos se han localizado con núcleos aminérgicos y se cree que pueden jugar algún papel en el patrón de descarga REM-off. Por lo tanto, es importante determinar el grado en el cual los mecanismos celulares y moleculares pueden mediar el patrón de descarga REM-off y la alteración del estado dependiente de la excitabilidad del NRD.

### 6.3.2. MECANISMOS POSTULADOS DE INTERACCION RECIPROCA

#### A) Inducción experimental de un estado de sueño REM.

Nuevos conceptos acerca de los procesos que activan las células REM-on han surgido de experimentos donde se usa la microinyección de drogas colinérgicas, que evocan un estado similar al sueño REM fisiológico (Baghdoyan et al., 1984). La microinyección ofrece ventajas sobre la estimulación eléctrica, por la capacidad que tienen de influir en los cuerpos celulares y no afectar fibras de paso. La estimulación química seguida por activación o bloqueo de receptores es una buena alternativa.

Con esta técnica se ha observado que los signos de sueño REM, se aumentan por efecto de la neostigmina, un inhibidor de la acetilcolinesterasa, que puede ser bloqueado por administración de un antagonista muscarínico como la escopolamina que suprime el sueño REM, inducido por carbacol (Shiromani y McGinty, 1983).

En la región pontina puede evocarse un estado de sueño REM por microinyección de agonistas colinérgicos, similar al sueño REM fisiológico, de acuerdo al sitio de administración (Baghdoyan et al., 1982). Si se realiza una microinyección con carbacol en tres regiones reticulares del puente como el FTG, el campo tegmental central, y el núcleo reticular tegmental (Baghdoyan et al.,

1982), se observa que el sitio más efectivo para la generación del sueño REM no es el centro del FTG como se predijo en el modelo de interacción recíproca. Hay una segunda región localizada muy distalmente, y que se propone como la zona generadora de las ondas PGO en la región peribraquial del puente anterodorsal lateral (Vivaldi et al., 1980). Cuando se inyecta carbacol en esta zona, las neuronas disparan y conducen a la generación de ondas PGO, como sucede durante el sueño REM fisiológico (Vivaldi et al., 1980; Nelson et al., 1983). Una tercera región propuesta está en la FR pontina posteroventral, porque cuando es microinyectada con carbacol se produce una alternancia estereotipada de movimiento de los ojos y ondas PGO (Baghdoyan et al., 1984). Estos hallazgos son consistentes con los datos neurofisiológicos que apoyan el concepto de una población diferenciada funcional y químicamente que genera el sueño REM.

La técnica de microinyección química ha mostrado que la población REM-on está anatómicamente distribuida. Así para producir el estado de sueño REM se ha unificado un posible mecanismo que podría desinhibir a la población celular REM-on por las células REM-off supuestamente aminérgicas.

El concepto de un reclutamiento celular se apoya por los datos de microinyección de agonistas colinérgicos. Por ejemplo, se ha mostrado que después de microinyecciones de carbacol en el puente posterodorsal, producen movimientos rápidos de los ojos, y después se suprime el sueño REM por 4 horas (Baghdoyan et al., 1982). Hay datos que implican que bajo condiciones fisiológicas, el reclutamiento de las poblaciones neuronales que comprenden el sueño REM se predice que es una red de la que proceden una secuencia ordenada de fenómenos.

#### 6.4. CONSIDERACIONES ESTRUCTURALES DEL MODELO DE INTERACCION RECÍPROCA

1) Componentes celulares: el énfasis inicial que se hace respecto a que las células gigantes reticulares pontinas y las del LC, son elementos críticos de la existencia de un sistema generador del sueño REM.

2) Conexiones sinápticas: Se ha sugerido que hay interconexiones sinápticas entre los 2 componentes candidatos originales, el FTG y el LC. Aunque hay evidencias convincentes de la significancia funcional de esas interconexiones, se ha reportado que no son únicas o bien están restringidas por la formulación inicial del modelo de interacción recíproca.

## 7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como hemos mencionado previamente, se ha propuesto la participación de distintas poblaciones neuronales de la formación reticular pontina en la generación y conservación del sueño REM, así mismo se ha propuesto la participación de algunos mensajeros químicos como la acetilcolina y la noradrenalina en la regulación del sueño REM.

Se ha destacado con evidencias fisiológicas y anatómicas la participación de la acetilcolina como neurotransmisor del FTG. Sin embargo, aunque se tienen evidencias sobre el papel que desempeña el FTG como algunos mensajeros químicos en el sueño REM. Se desconoce como se llevan a cabo eventos importantes de la neurotransmisión en esa región.

En el presente trabajo se tiene interés por caracterizar bioquímicamente la liberación de acetilcolina en el FTG así como determinar su posible participación adrenérgica, con la finalidad de llegar a conocer las posibles interacciones adrenérgica y colinérgica propuestas en el modelo de interacción recíproca (Hobson y McCarley, 1975).

Para este propósito se realizarán estudios de liberación de acetilcolina en la preparación de rebanadas de FTG, en las que se valorará la participación adrenérgica sobre la liberación de acetilcolina, haciendo uso de fármacos adrenérgicos como son el isoproterenol (agonista beta 1, 2 adrenérgico) y el propranolol (antagonista beta 1, 2 adrenérgico).

Con este trabajo, se pretende contar con un panorama de los aspectos básicos sobre la neurotransmisión colinérgica en el FTG, para tratar de discernir como es la comunicación colinérgica en esta región involucrada con el sueño REM.

## 8. HIPOTESIS

Con base en los antecedentes expuestos en los que se describe la influencia de la acetilcolina en el FTG y su relación con el sistema aminérgico, así como la participación de la acetilcolina en la inducción y/o facilitación del sueño REM, proponemos que la acetilcolina funciona como un neurotransmisor en el FTG y que además existen interacciones entre el sistema aminérgico y colinérgico.

## 9. OBJETIVOS

- 1) Caracterizar la liberación de la ACh en el FTG de la rata.
- 2) Evaluar la influencia adrenérgica sobre la liberación de ACh en el FTG de la rata.

## 10. MATERIALES Y METODOS

### Materiales:

El [methyl-  $^3\text{H}$ ] cloruro de colina (actividad específica 80 Ci/mmol) se obtuvo de la compañía New England Nuclear (Boston, MA, U.S.A); el cloruro de colina, la colina cinasa, el isoproterenol, el propranolol y la fisostigmina de Sigma Chemical (St. Louis, MO, U.S.A).

En su gran mayoría los reactivos utilizados en la preparación de las soluciones se obtuvieron de Merck-México; el disolvente de tejidos NCS de Amersham, Arlington Heights. III.U.S.A.

En los experimentos se utilizaron ratas macho cepa Wistar (250-300 g) que fueron sacrificadas por decapitación. Se realizó la disección del campo tegmental gigantocelular (FTG), tomando como referencia el surco bulbopontino y pontomesencefálico (ver figura 7 y 8), y se obtuvieron las rebanadas manualmente con un grosor de aproximadamente 300  $\mu\text{m}$ .

Los experimentos de liberación se llevaron a cabo en presencia y ausencia de un agonista adrenérgico, el DL-Isoproterenol ( $3.0 \times 10^{-7}$  M), o de un antagonista adrenérgico, el DL-Propranolol ( $5.0 \times 10^{-9}$  M).

### A) EXPERIMENTOS DE LIBERACION POR EL METODO DE SUPERFUSION

Se realizaron las siguientes manipulaciones experimentales:

A1) Liberación de [ $^3\text{H}$ ]-ACh dependiente de  $\text{Ca}^{++}$ , estimulada por una concentración elevada de  $\text{K}^+$  (47mM).

A2) Liberación de [ $^3\text{H}$ ]-ACh independiente de  $\text{Ca}^{++}$ , estimulada por una concentración elevada de  $\text{K}^+$  (47 mM).

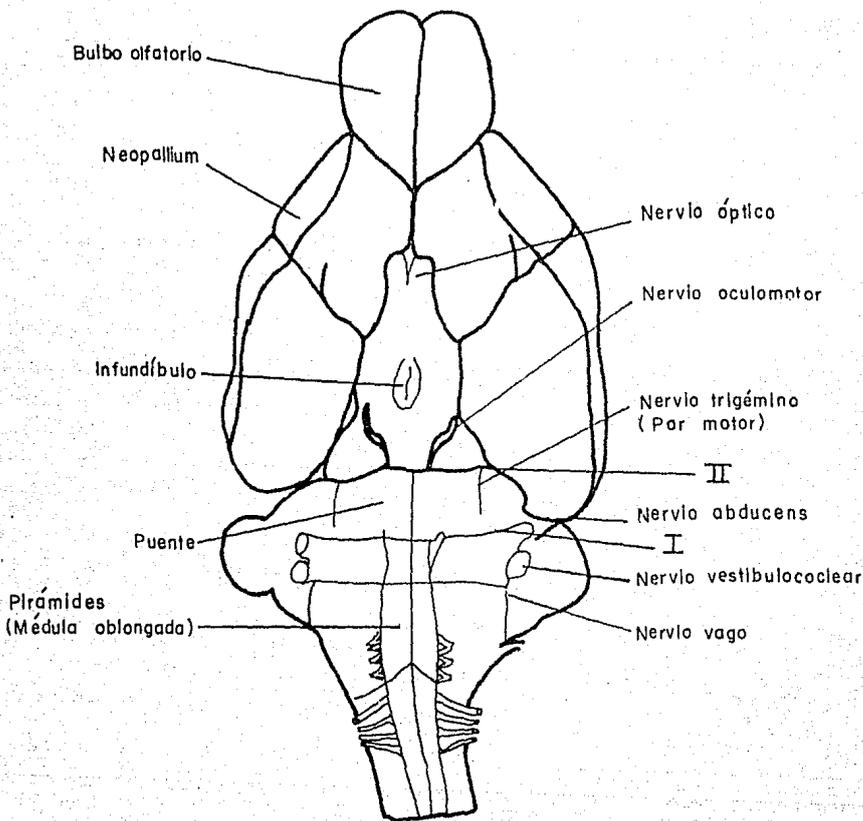
A3) Liberación de [ $^3\text{H}$ ]-ACh dependiente de  $\text{Ca}^{++}$  sin inducir la despolarización, en presencia de DL- Isoproterenol 300 nM durante la superfusión.

A4) Liberación de [ $^3\text{H}$ ]-ACh dependiente de  $\text{Ca}^{++}$  inducida con un medio despolarizante de  $\text{K}^+$  (47 mM), en presencia de DL- Isoproterenol 300 nM durante la superfusión.

A5) Liberación de [ $^3\text{H}$ ]-ACh dependiente de  $\text{Ca}^{++}$  sin inducir la despolarización, en presencia de DL- Propranolol 5 nM durante la superfusión.

A6) Liberación de [ $^3\text{H}$ ]-ACh dependiente de  $\text{Ca}^{++}$  inducida con un medio despolarizante de  $\text{K}^+$  (47mM), en presencia de Propranolol 5 nM durante la superfusión.

### B) EXPERIMENTOS PARA LA SEPARACION DE [ $^3\text{H}$ ]-COLINA Y DE [ $^3\text{H}$ ]-ACH LIBERADA.



**FIG. 7** VISTA VENTRAL DEL CEREBRO DE LA RATA DONDE SE MUESTRA EL SURCO BULBOPONTINO (I) Y EL SURCO PONTOMESENCEFÁLICO (II), QUE FUERON TOMADOS COMO REFERENCIA PARA LA DISECCIÓN DEL FIG.

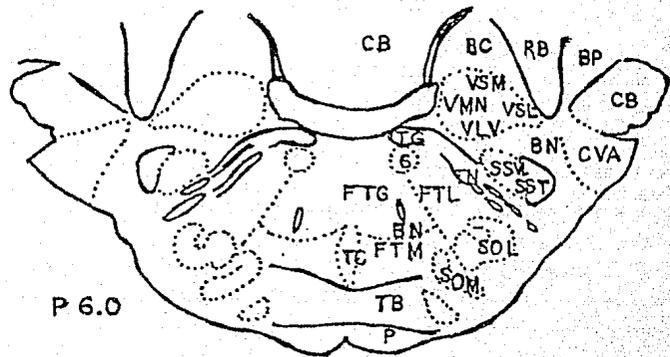
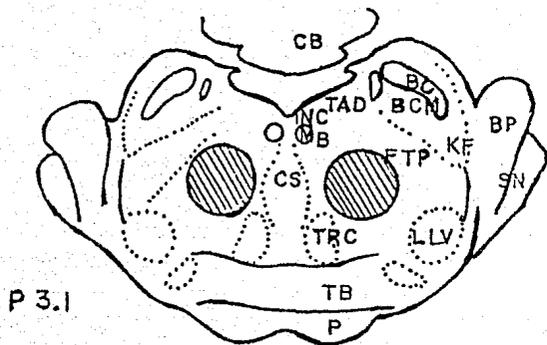


FIG. 8

LOCALIZACIÓN DEL CAMPO TEGMENTAL GIGANTOCELULAR (FTG): ESTE NÚCLEO SE ENCUENTRA EN EL PUENTE ENTRE EL NÚCLEO DEL VI PAR Y EL NÚCLEO DEL RAJE DORSAL. EL FTG SE REPRESENTA EN UN CÍRCULO CON RAYAS DIAGONALES EN SU INTERIOR.

## A) EXPERIMENTOS DE LIBERACION POR EL METODO DE SUPERFUSION.

A1) La liberación de [3H]-ACh marcada de las rebanadas de FT6 fue estudiada por la técnica de superfusión continua previamente descrita en detalle por Tapia y Meza-Ruiz (1977) con algunas modificaciones (Tapia y Sitges, 1982).

Se utilizaron rebanadas de FT6, que fueron preincubadas por 10 minutos a 37 °C en 1 ml de medio Krebs-Ringer a pH 7.4 con oxigenación y agitación constantes. El medio se preparó de la siguiente manera (concentración en mM): NaCl 118, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, KCl 4.7, MgSO<sub>4</sub> 1.17, CaCl<sub>2</sub> 2.5, glucosa 5.6 y Tris-HCl 2.5 pH 7.4; con el fin de evitar la degradación de la acetilcolina, se adicionó sulfato de eserina (0.1 mM). Al final de este período de preincubación se añadieron 40 µl de una mezcla de [3H]-Colina para lograr una concentración final de 0.17 µM y saturar el sistema de alta afinidad. Después de 15 minutos de captura las rebanadas se trasladaron a las cámaras de superfusión, colocándose 3 de ellas en cada cámara.

El sistema de superfusión consistió de 6 cámaras (con un volumen de 1.5 ml por cámara) arregladas en paralelo y conectadas a una bomba peristáltica donde se selecciona una velocidad de flujo de 1.5 ml/min.

Una vez colocadas las rebanadas se hizo circular un medio Krebs-Ringer normal por el sistema de superfusión a la velocidad ya indicada durante 8 minutos y a una temperatura de 37°C, a fin de lavar las rebanadas y eliminar la [3H]-Colina que no fue capturada. Después de 8 minutos de lavado se ajustó la velocidad de flujo a 1 ml/min obteniéndose fracciones cada minuto. A los 5 minutos de la colecta se cambió el medio por uno que contenía una concentración alta de K<sup>+</sup> (47 mM). Se siguió colectando de esa manera las muestras hasta el minuto 12. La radioactividad liberada en cada fracción y la que permaneció en el tejido al final de la superfusión, fue cuantificada por espectrofotometría de centelleo después de la adición de 10 ml de tritosol (Fricke, 1975). El tejido de cada camarita fue recogido y solubilizado en 0.4 ml de NCS y posteriormente también se le añadió el tritosol para cuantificar la radioactividad. Los resultados fueron expresados como porcentaje de radioactividad total liberada por minuto (radioactividad total = liberación total más la que permaneció en el tejido al final de la superfusión).

A2) Estos experimentos se realizaron siguiendo el mismo procedimiento del inciso anterior, sólo que el medio de liberación careció de CaCl<sub>2</sub> y se le agregó un agente quelante del mismo catión, el EGTA (0.1 mM).

A3) Se siguió el mismo procedimiento que en el inciso 1 pero el cambio fue a un medio de superfusión en condiciones no despolarizantes al que se le adicionó DL-Isoproterenol (300 nM) durante la superfusión.

A4) De manera similar al inciso 1, pero haciendo el cambio a un medio de superfusión que contenía una concentración alta de K<sup>+</sup> (47 mM) al que se le adicionó DL-Isoproterenol (300 nM) durante la superfusión.

A5) Igual que en el inciso 1, pero haciendo el cambio a un medio de superfusión en condiciones no despolarizantes y al que se le adicionó DL-Propranolol (5 nM) durante la superfusión.

A6) Se siguió el procedimiento mencionado en el inciso 1, cambiando a un medio de superfusión que contenía una concentración elevada de K<sup>+</sup> (47 mM) adicionando el DL-Propranolol (5 nM) durante la superfusión.

## B) SEPARACION DE [3H]-COLINA Y DE [3H]-ACh LIBERADA.

De algunos experimentos de liberación de [3H]-ACh, se recolectaron muestras para valorar la proporción de [3H]-colina con respecto a la [3H]-ACh que se tiene. Para esto se utilizaron las muestras de 1 minuto antes del estímulo despolarizante (minuto 4-5), 1 fracción durante la despolarización (minuto 7-8) y 1 fracción del periodo después de la despolarización (minuto 9-10). La separación está basada en el desplazamiento de la colina de la fase orgánica a la fase acuosa, producida por su fosforilación catalizada por la enzima colin-fosfoquinasa. Para este propósito, la colina fue fosforilada por la colina quinasa descrita por Goldberg y Mc Caman (1973) y ACh fue separada de la resultante fosforilcolina por extracción con kalignost en una mezcla de líquido de centelleo, como describió Fonnum (1975).

Se hace un control de fosforilación de la enzima colinofosfoquinasa.

Separación en los ensayos de liberación: De las fracciones colectadas en algunos experimentos con [3H]-colina a los tiempos mencionados anteriormente, se utilizan para la reacción enzimática. Se separó la mitad del tejido disuelto en NaOH 0.5 N, se agregó 2ml de H<sub>2</sub>O fría, se agitó durante 10 minutos. Se tomaron 2 fracciones de 1ml para la reacción enzimática. Al mililitro de perfusado se agregó 266  $\mu$ l del buffer glicil-glicina pH 8.5, 14  $\mu$ l de ATP disódico 0.1 M y 20  $\mu$ l de la enzima colinofosfoquinasa. Se incubó durante 15 minutos a 37 °C. Se añadieron 2ml de kalignost + 10 ml de líquido de centelleo, se realizó una rotación durante 5 minutos para mezclar. Se esperó la separación de las fases, en donde la colina se desplazó de la fase orgánica a la fase acuosa producida por su fosforilación catalizada por la enzima, y se contó la radioactividad de la fase orgánica. A la otra mitad de la fracción se le añadieron 10 ml de tritosol para contar la radioactividad. De esta manera el número de cuentas representa la marca radioactiva total (3H-colina + 3H-Acetilcolina), mientras que en las muestras donde se realizó la reacción enzimática sólo se cuenta la 3H-Acetilcolina. Así se puede calcular, para cada fracción, la cantidad de 3H-colina y 3H-Acetilcolina.

## 11. RESULTADOS.

### A) EXPERIMENTOS DE LIBERACION POR EL METODO DE SUPERFUSION.

A1) En la gráfica de liberación de [3H]-ACh (ver figura 9) se considera el por ciento liberado respecto al total capturado por las rebanadas, en función del tiempo. Cerca del 82.60 % de liberación se observó en el pico de estimulación sobre el correspondiente valor de prestimulación en presencia de Ca<sup>++</sup>.

A2) Utilizando un medio Krebs-Ringer en ausencia de Ca<sup>++</sup> y con alto K<sup>+</sup> como agente despolarizante, la liberación de [3H]-ACh no se estimuló en ausencia del ión Ca<sup>++</sup> (ver figura 9). Observándose que en ausencia de este ión no hay liberación de acetilcolina. Demostrándose que la liberación de [3H]-ACh inducida por despolarización con alto K<sup>+</sup> fue estrictamente dependiente de la presencia de calcio externo.

A3) Los resultados de esos experimentos se muestran en la figura 10. La forma de la curva que se obtuvo con el efecto del isoproterenol (agonista beta 1, 2 adrenérgico) es diferente a la obtenida con los experimentos control (ver figura 10, B → B ), porque con el fármaco hay un efecto agudo que decae rápidamente con el tiempo.

En los experimentos control encontramos que al no haber un estímulo despolarizante, en estos, no se da la liberación del transmisor.

Los resultados obtenidos con el isoproterenol (ver figura 10) en estas condiciones experimentales fueron los siguientes: 147.85% de liberación de ACh, sobre el correspondiente valor obtenido antes de hacer el cambio de medio de superfusión.

Nuestros resultados indican que el isoproterenol afectó la liberación de [3H]-ACh.

A4) Los resultados de esos experimentos se muestran en la figura 11. Cuando se aplicó un estímulo despolarizante con K<sup>+</sup> (47 mM) en presencia de DL-Isoproterenol (agonista beta 1, 2 adrenérgico) durante la superfusión encontramos liberación del neurotransmisor. Por lo que podemos decir que el isoproterenol, en estas condiciones experimentales, no afectó la liberación de [3H]-ACh si se compara éste con el grupo control (ver figura 11, B → K ).

A5) Los resultados de esos experimentos se muestran en la figura 10. Cuando no se indujo la despolarización y se aplicó el DL-Propranolol (antagonista beta 1, 2 adrenérgico) durante la superfusión no hubo liberación de [3H]-ACh. Por lo tanto nuestros resultados indican que éste fármaco no afectó la liberación de [3H]-ACh en estas condiciones experimentales.

A6) Comparando los experimentos control (ver figura 11, B → K ) con los obtenidos al inducir la despolarización con K<sup>+</sup> (47 mM) en presencia de DL-Propranolol (antagonista beta 1, 2 adrenérgico) durante la superfusión (ver figura 11), se observó liberación de [3H]-ACh en presencia del fármaco. Sin embargo las diferencias de

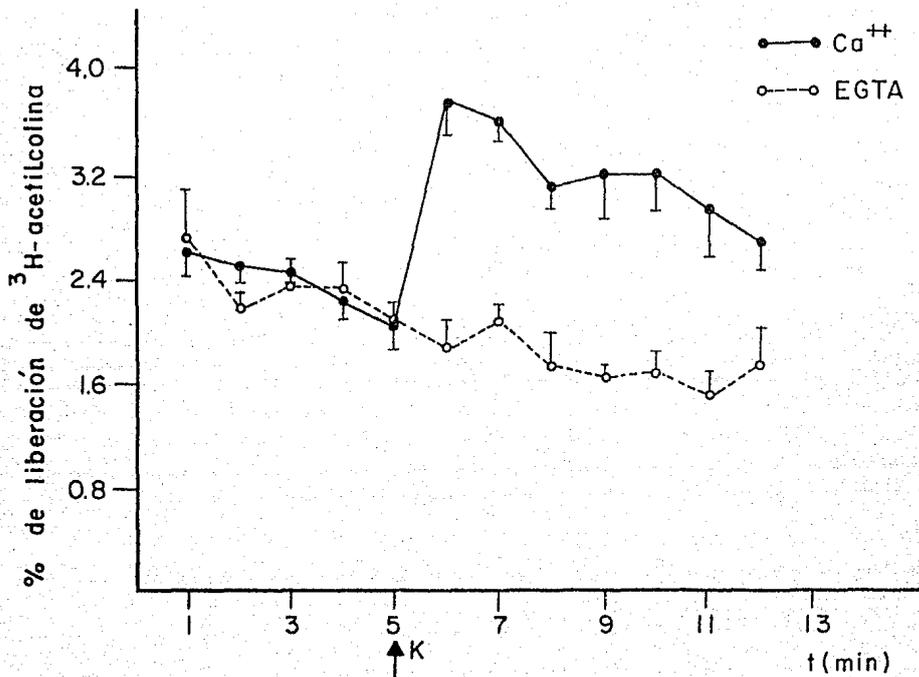


FIG. 9 EFECTO DE LA OMISIÓN DE  $Ca^{++}$  EN EL MEDIO DE SUPERFUSIÓN ( $Ca^{++}$  SUSTITUIDO POR EGTA) EN LA LIBERACIÓN DE  $(3H)$ -ACETILCOLINA ESTIMULADA CON ALTO  $K^+$  (47 mM). DESPUÉS DE QUE LAS REBANADAS FUERON INCUBADAS CON LA MARCA DE COLINA FUERON SUPERFUNDIDAS COMO SE DESCRIBIÓ EN EL MÉTODO. AL MINUTO CINCO (FLECHA) EL MEDIO DE SUPERFUSIÓN FUE RÁPIDAMENTE SUSTITUIDO POR UN MEDIO CON ALTO  $K^+$  (47 mM) QUE CONTENÍA 2.5 mM DE  $Ca^{++}$  O POR UN MEDIO QUE CONTENÍA 0.1 mM DE EGTA (COMO AGENTE QUELANTE) PERO NO  $Ca^{++}$ . CADA PUNTO ES EL VALOR PROMEDIO DE 6 EXPERIMENTOS  $\bar{x} \pm E.S.$

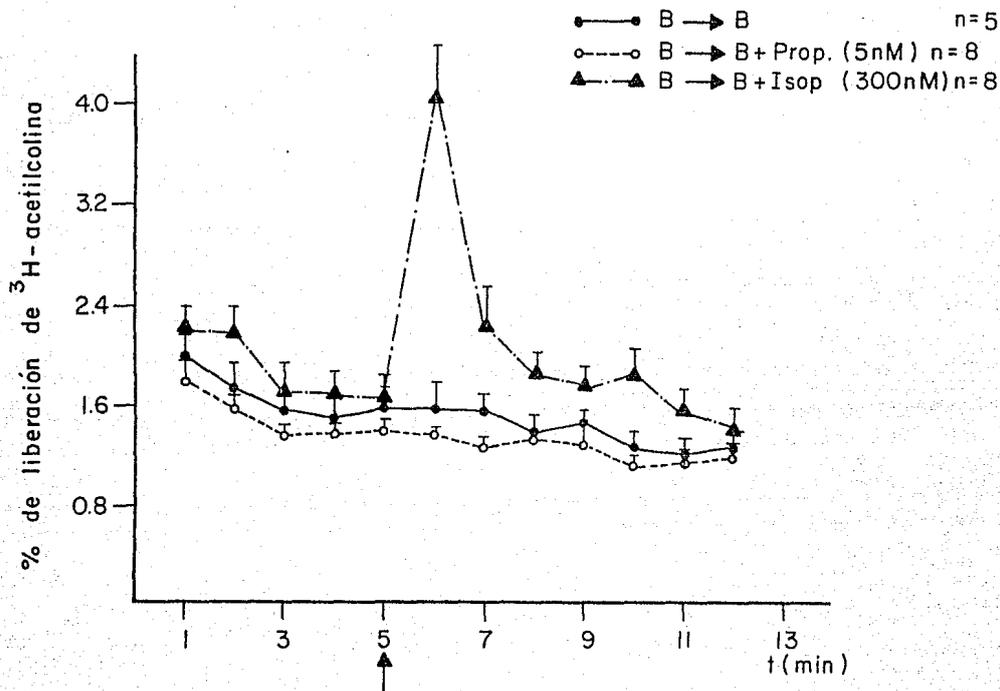


FIG.10 EFECTO DEL ISOPROTERENOL Y PROPRANOLOL EN LA LIBERACIÓN DE (3H)-ACETILCOLINA EN UN MEDIO QUE CONTENIA  $Ca^{++}$  (2.5 mM). LA CONCENTRACIÓN DE ISOPROTERENOL FUE DE 300 nM Y LA DE PROPRANOLOL DE 5 nM. LAS REBANADAS DEL FTG FUERON INCUBADAS CON LA MARCA DE CH Y SUPERFUNDIDAS CON UN MEDIO KREBS-RINGER NORMAL EN PRESENCIA DE  $Ca^{++}$  (2.5mM). COMO SE DESCRIBIÓ EN MÉTODOS. AL MINUTO 5 (FLECHA VERTICAL) EL MEDIO DE SUPERFUSIÓN INICIAL FUE SUSTITUIDO POR UN MEDIO KREBS-RINGER NORMAL EN PRESENCIA DE CALCIO QUE CONTENÍA ISOPROTERENOL. EN ÉSTA GRÁFICA SE REPRESENTA EL PORCENTAJE DE LIBERACIÓN DE (3H)-ACETILCOLINA A TRAVÉS DEL TIEMPO. CADA PUNTO ES EL VALOR PROMEDIO DE 8 EXPERIMENTOS.  $\bar{X} \pm E.S.$

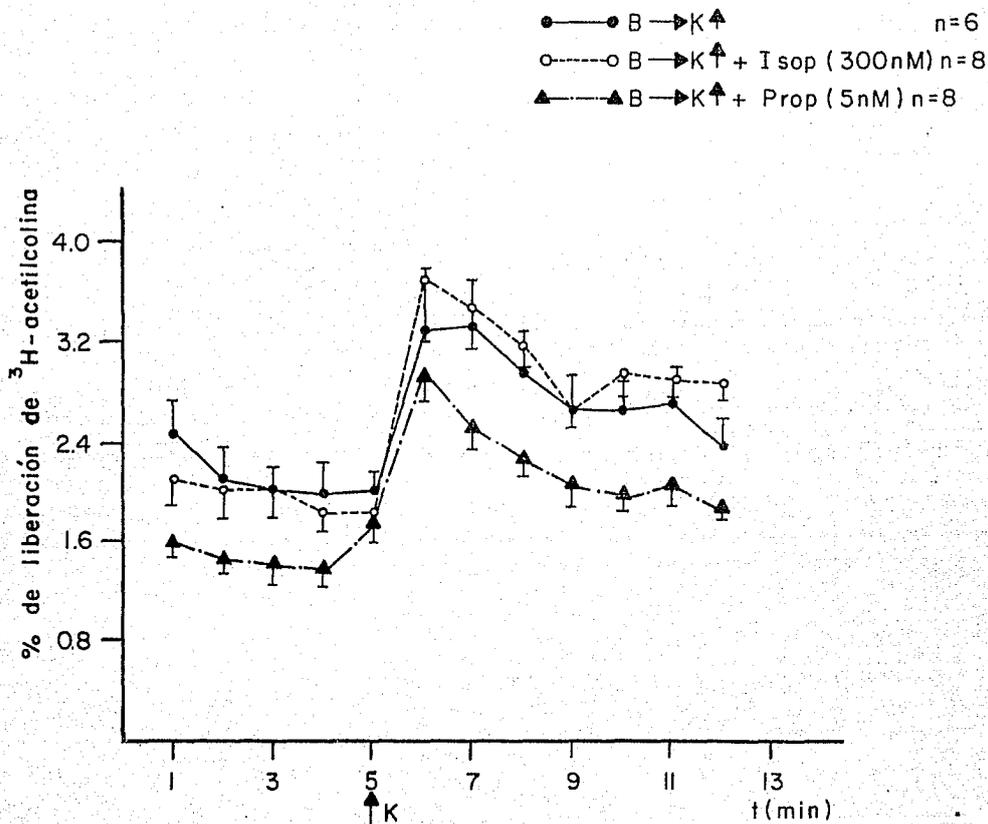


FIG. 11 EFECTO DEL ISOPROTERENOL Y PROPRANOLOL EN LA LIBERACIÓN DE [3H]-ACETILCOLINA EN UN MEDIO QUE CONTENÍA  $Ca^{++}$  (2.5 mM). LA CONCENTRACIÓN DE ISOPROTERENOL FUE DE 300 nM Y LA DE PROPRANOLOL 5 nM. LAS REBANADAS DE FTG FUERON INCUBADAS CON LA MARCA DE COLINA Y SUPERFUNDIDAS CON UN MEDIO KREBS-RINGER NORMAL EN PRESENCIA DE  $Ca^{++}$  (2.5 mM) COMO SE DESCRIBIÓ EN MÉTODOS. AL MINUTO 5 (FLECHA VERTICAL) EL MEDIO DE SUPERFUSIÓN INICIAL FUE SUBSTITUIDO POR UN MEDIO KREBS-RINGER (EN PRESENCIA DE  $Ca^{++}$ ) EN CONDICIONES DESPOLARIZANTES CON  $K^+$  (47 mM) EN PRESENCIA DE ISOPROTERENOL O PROPRANOLOL. EN ESTA GRÁFICA SE REPRESENTA EL PORCENTAJE DE LIBERACIÓN DE [3H]-ACH A TRAVÉS DEL TIEMPO. CADA PUNTO ES EL VALOR PROMEDIO DE 8 EXPERIMENTOS. X $\pm$ /-E.S.

la liberación entre el grupo control y el experimental no son estadísticamente significativas. Indicándose que en estas condiciones experimentales el propranolol no afectó la liberación de [3H]-ACh.

#### B) EXPERIMENTOS PARA LA SEPARACION DE [3H]-COLINA Y DE [3H]-ACh LIBERADA .

En los resultados obtenidos en las rebanadas del FTG, marcadas con colina y por la notable diferencia observada entre la liberación de [3H]-ACh en presencia y en ausencia de  $Ca^{++}$  fue necesario demostrar que la ACh era realmente liberada de las rebanadas y no el precursor (la colina), por lo tanto la acetilcolina liberada fue separada de la colina marcada como se describió en materiales y métodos.

Como se muestra en la figura 12, se encontró que en los periodos de superfusión estudiados y en presencia de  $Ca^{++}$  (4-5, 7-8 y 9-10 minutos) obtuvimos que en el minuto 4-5 (valor de prestimulación) el 49.34% es de ACh y el 50.65% de colina. En el minuto 7-8 (valor durante la despolarización) el 88.95% fue de ACh y el 11.04% de colina; en el minuto 9-10 (valor después de la despolarización) el 90.82% fue de ACh y el 9.17% de colina; estos resultados nos indican que lo que valoramos en un alto porcentaje es de acetilcolina. Lo que nos indica que se requiere la despolarización y la presencia de calcio para la liberación del transmisor.

Sin embargo, como se muestra en la figura 13, se encontró que en los periodos de superfusión obtenidos pero en ausencia de  $Ca^{++}$  ( 4-5, 7-8 y 9-10) se obtuvo que en el minuto 4-5 (valor de prestimulación) el 54.31% fue de ACh y el 4% de colina. En el minuto 7-8 (valor durante la despolarización) obtuvimos que el 67.34% fue de ACh y el 33.04% de colina; en el minuto 9-10 (valor después de la despolarización) el 73.84% fue de ACh y el 26.15% de colina. Estos resultados nos indican que no solo se necesita la despolarización de la membrana presináptica para la liberación del transmisor sino también la presencia de  $Ca^{++}$  en el exterior para que se libere.

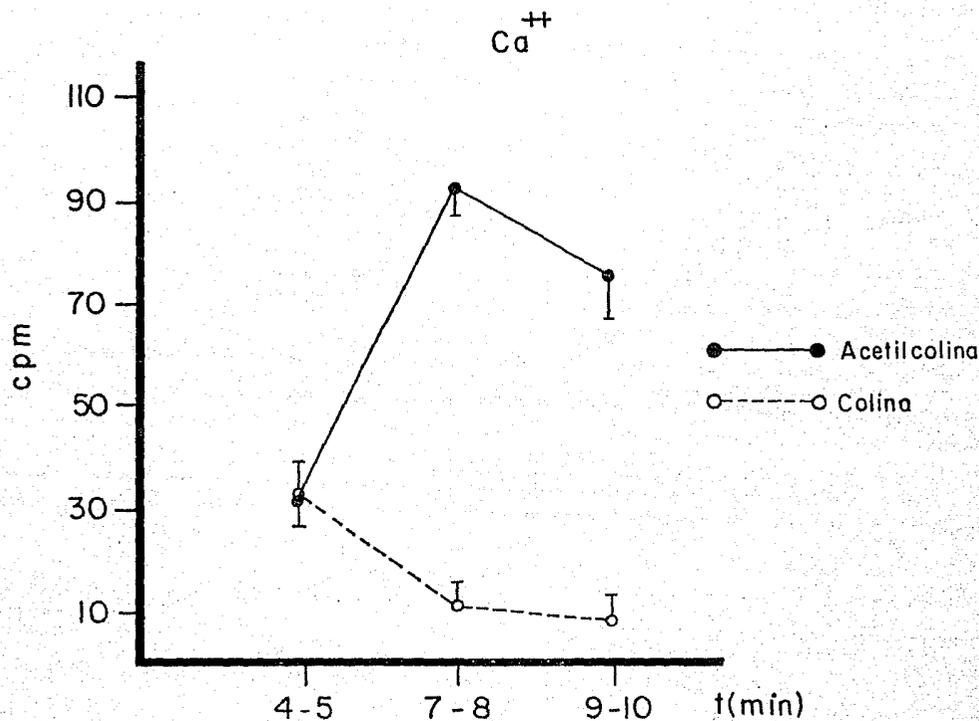


FIG. 12 EN ESTA GRÁFICA SE REPRESENTAN LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA SEPARACIÓN DE COLINA MARCADA Y ACETILCOLINA LIBERADA DE LOS POOLS DE FRACCIONES DE 4-5, 7-8 Y 9-10 MINUTOS (COMO SE DESCRIBIÓ PREVIAMENTE EN MATERIALES Y MÉTODOS), DE EXPERIMENTOS A LOS QUE SE LES APLICÓ UN ESTÍMULO DESPOLARIZANTE CON  $\text{K}^+$  (47 mM) Y EN PRESENCIA DE CALCIO. LOS RESULTADOS SE REPRESENTAN EN CUENTAS POR MINUTO A TRAVÉS DEL TIEMPO. CADA PUNTO ES EL VALOR PROMEDIO DE 6 EXPERIMENTOS.  $\bar{X} \pm \text{E.S.}$

EGTA (sin  $\text{Ca}^{++}$ )

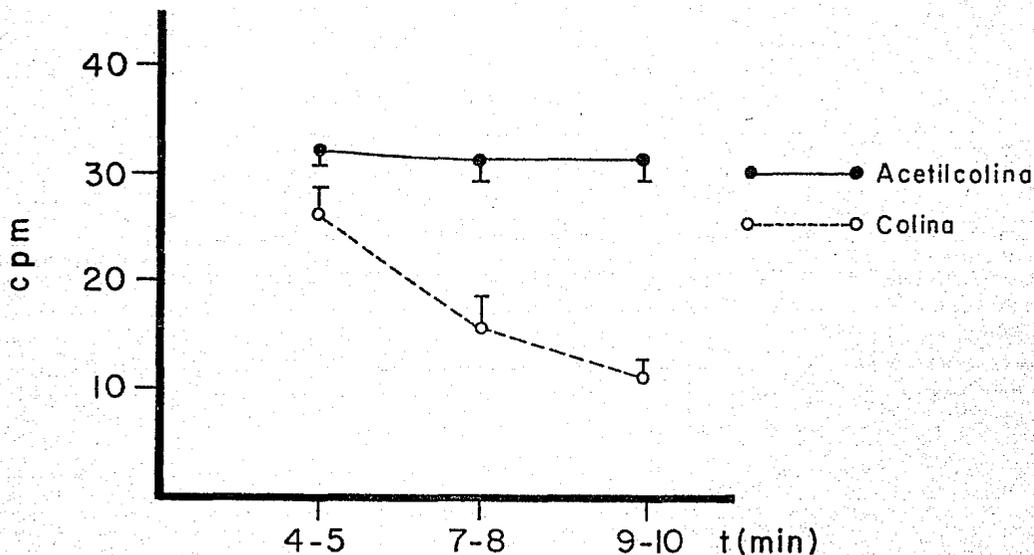


FIG. 13 EN ESTA GRÁFICA SE REPRESENTAN LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA SEPARACIÓN DE COLINA DE ACETILCOLINA LIBERADA DE LOS POOLS DE FRACCIONES DE 4-5, 7-8 Y 9-10 MINUTOS (COMO SE DESCRIBIÓ PREVIAMENTE EN MATERIALES Y MÉTODOS), DE EXPERIMENTOS A LOS QUE SE LES APLICÓ UN ESTÍMULO DESPOLARIZANTE CON  $\text{K}^+$  (47 mM), PERO EN AUSENCIA DE CALCIO. LOS RESULTADOS OBTENIDOS SE REPRESENTAN EN CUENTAS POR MINUTOS A TRAVÉS DEL TIEMPO. CADA PUNTO ES EL VALOR PROMEDIO DE 6 EXPERIMENTOS.  $x \pm E.S.$

## 12. DISCUSION

Las evidencias indican que el tallo cerebral es responsable de los componentes tónicos y fásicos del sueño REM (Vertes, 1984). Los mecanismos colinérgicos están involucrados en algunos componentes del sueño REM; lo anterior se basa en estudios de aplicación de agentes colinérgicos en la formación reticular del tallo cerebral (Hernández-Feón et al., 1963; Hobson, 1974, 1978; Van Dongen, 1980; Vivaldi et al., 1980; Baghdoyan et al., 1982) particularmente en ciertas regiones tales como el FTG. Existen evidencias de la red difusa de neuronas colinoceptivas de la formación reticular pontina, que inician y mantienen el sueño REM. Hasta el momento se desconoce el origen de la entrada colinérgica a estas neuronas colinoceptivas. Los estudios de descarga celular durante el sueño REM, sugieren que el FTG puede constituir una zona que inicia esa fase del sueño (Hobson et al., 1974; McCarley y Hobson, 1975). La hipótesis de que el FTG constituye el generador del sueño REM, aún está en discusión y en la revisión reciente del modelo de interacción recíproca se propone que esta hipótesis está lejos de ser verídica en su totalidad.

Se ha mostrado que la descarga neuronal del FTG no se activa sólo durante el sueño REM. Aunque se ha propuesto que sólo lesiones externas del FTG pontino son capaces de suprimir esta fase del sueño (Jones, 1984).

La relación entre la descarga del FTG y ciertos movimientos no rechaza que la activación del FTG y otros sistemas neurales motores pueden estar involucrados en la generación de varios eventos de esta fase del sueño.

Las evidencias apoyan que las células del FTG están dramáticamente activadas durante el sueño REM; numerosos estudios han indicado la importancia de su activación. Desafortunadamente, los mecanismos celulares de esta activación durante esta fase del sueño aún se desconocen, haciendo difícil establecer una relación entre la activación del FTG con el sueño REM.

Recientes análisis intracelulares sobre las características de la membrana de las neuronas del FTG, han demostrado que estas células están despolarizadas antes y durante el sueño REM (McCarley e Ito, 1983; Ito y McCarley, 1984).

Se ha estudiado la química de las neuronas del tallo cerebral, encontrándose marcación positiva para la enzima acetilcolinesterasa en células del FTG (Kimura et al., 1981; Jones, 1985). Aunque no ha sido posible demostrar la presencia de acetilcolina, la identificación inmunohistoquímica de la enzima sintética colinacetiltransferasa (ChAT) también se ha observado en las células del FTG pontino (Cuellar y Sofroniew, 1984; Kimura et al., 1981). Se ha mostrado que las grandes células en el FTG rostral se marcaron fuertemente para la ChAT. Kimura y col. (1981) sugirieron que esas células son colinoceptivas y colinérgicas. Sin embargo la naturaleza colinérgica de las células del FTG pontino parece confirmarse por el uso de un anticuerpo monoclonal para la ChAT.

Hasta aquí se ha destacado la participación de neuronas colinoceptivas y/o colinérgicas del FTG durante el sueño REM; las evidencias que apoyan estos son de tipo electrofisiológico,

farmacológico y morfológico, pero el enfoque bioquímico utilizado en este trabajo, para conocer la naturaleza de las neuronas del FTG, no se había realizado previamente.

Como un aspecto importante del modelo de interacción recíproca en el que se propone que la acetilcolina regula la descarga de las neuronas del FTG, los resultados encontrados por nosotros son una prueba de la presencia de terminales colinérgicas, porque:

1- Existe un transporte para la colina en rebanadas de FTG así como la maquinaria biosintética para producir acetilcolina. Aunque la enzima responsable de la síntesis de acetilcolina no fue medida, el hecho de haber encontrado [3H]-ACh después de haber dado el precursor, la [3H]-Colina, es una prueba importante en ese sentido.

2- La acetilcolina es capaz de liberarse de las rebanadas del FTG. Esta liberación inducida por despolarización con  $K^+$  (47 mM), es aproximadamente de 82.6% sobre la liberación basal, siendo esta totalmente dependiente de  $Ca^{++}$ .

La liberación dependiente de  $Ca^{++}$  de una sustancia química es un criterio para la caracterización de ella como neurotransmisor. Acerca de la participación del  $Ca^{++}$  en la liberación de un neurotransmisor, se conoce que para que éste se libere en presencia de un potencial de acción, es indispensable la participación del  $Ca^{++}$ , que penetra en la terminal nerviosa por canales específicos sensibles a cambios de voltaje y eleva su concentración intraterminal promoviendo la liberación del neurotransmisor (Llinás y Nicholson, 1975; Miledi, 1973; Llinás y Heuser, 1977; Rubin, 1982).

En el sistema nervioso central de vertebrados, la dependencia de  $Ca^{++}$  para la liberación de varios neurotransmisores ha sido demostrada tanto en rebanadas como en sinaptosomas (Srinivisan et al., 1969; Blaustein et al., 1972; Mulder y Snyder, 1974; López-Colomé et al., 1978; Wannacott et al., 1978; Arias y Tapia, 1986).

En nuestros resultados se muestra claramente una diferencia en la magnitud de la acetilcolina liberada con relación al transporte de calcio, por lo que concluimos que la liberación del transmisor resultó ser estrictamente dependiente del transporte de este catión.

El neurotransmisor liberado fue en todos los casos acetilcolina y no el precursor (la colina), como fue demostrado en los experimentos de separación de ambos compuestos donde obtuvimos que aproximadamente el 90% de marca radioactiva es de acetilcolina y sólo el 10% de colina. Como se muestra en la figura 12, se encontró que en los periodos de superfusión estudiados y en presencia de  $Ca^{++}$  (4-5, 7-8 y 9-10) obtuvimos que en el minuto 4-5 (valor de prestimulación) el 49.34% es de ACh y el 50.65% de colina. En el minuto 7-8 (valor durante la despolarización) el 88.95% fue de ACh y el 11.04% de colina; en el minuto 9-10 (valor después de la despolarización) el 90.82% fue de ACh y el 9.17% de colina.

Sin embargo, como se muestra en la figura 13 se encontró que en los periodos de superfusión en ausencia de  $Ca^{++}$  (4-5, 7-8 y 9-10) se obtuvo que en el minuto 4-5 (valor de prestimulación) el 54.31% fue de ACh y el 49% de colina. En el minuto 7-8 (valor durante la despolarización) obtuvimos que el 67.34% fue de ACh y

el 33.04% de colina; en el minuto 9-10 (valor después de la despolarización) el 73.84% fue de ACh y el 26.15% de colina. Estos resultados nos indican que no solo se necesita la despolarización de la membrana presináptica para la liberación del transmisor sino también la presencia de  $Ca^{++}$  en el exterior para que este se libere éste.

Se desconoce si las terminales colinérgicas encontradas en nuestros experimentos provienen de una proyección distante o si pertenecen a neuronas locales o interneuronas. Algunos autores han destacado la relación anatómica que existe entre el FTG y otros núcleos, entre los que se encuentran los siguientes:

a) el núcleo del rafe dorsal que proyecta a la formación reticular mesencefálica, a la formación reticular pontina y al locus coeruleus (Sakai, 1977; Touret et al., 1977; Conrad et al., 1974; Gallager y Pert, 1978; Taber-Pierce et al., 1976; Pickel et al., 1977; Morgane y Jacobs, 1979).

b) El locus coeruleus también proyecta a la formación reticular pontina (Scheibel y Scheibel, 1958; Sladek, 1971; Maeda et al., 1973; Chu y Bloom, 1974; Sakai, 1977; Touret et al., 1977; Sakai et al., 1979).

c) La formación reticular pontina proyecta al núcleo del rafe dorsal, al locus coeruleus a la formación reticular bulbar y a la médula espinal (Ramón y Cajal, 1952; Scheibel y Scheibel, 1958; Walberg, 1974; Graybiel, 1977; Nauta y Kuypers, 1958; Valverde, 1961; Aghajanian y Wang, 1977; Gallager y Pert, 1978; Sakai et al., 1979; Jones, 1985; Tohyama, 1979; Sakai, 1979; Salvetti et al., 1979; Jones, 1985; Bowker et al., 1983). Por otro lado, se han observado proyecciones colinérgicas a la formación reticular medial. Dos grupos colinérgicos son la posible fuente de esas entradas colinérgicas a la formación reticular pontina. El primer grupo está localizado en el pedúnculo pontino (PPG) y en grupos localizados en el campo laterodorsal (LDT). Esas células forman la más grande colección de células colinérgicas en la formación reticular ponto-mesencefálica (Kimura et al., 1981; Mesulam et al., 1983; Arhstrom et al., 1983; Satoh et al., 1983). Esos dos grupos forman la vía colinérgica ascendente de Shute y Lewis (Lewis et al., 1967; Wilson, 1985) que inerva el tálamo, hipocampo, hipotálamo y corteza cingulada (Mesulam et al., 1983; Coyle et al., 1983; Wilson, 1985; Saper et al., 1982; Sofroniew et al., 1985). La otra posible fuente de aferencias a la formación reticular pontina medial son las células colinérgicas del prosencéfalo basal.

Queda abierta la posibilidad de la participación de varios núcleos como fuentes colinérgicas al FTG, y que estas son las que pueden estar modulando de alguna manera la función de ese núcleo.

La dopamina, norepinefrina y serotonina tienen un papel importante en el sueño y en el despertar (Jouvet, 1972; Jacobs et al., 1978). Esos neurotransmisores tienen un control inhibitorio en el sistema neuronal difusamente representado y responsable de la iniciación y conservación del sueño REM (Hobson et al., 1986).

El modelo de interacción recíproca (Hobson et al., 1975; McCarley y Hobson, 1975) plantea la relación entre dos poblaciones celulares que se encuentran en el tallo cerebral, una es la población de células REM-on localizadas en el FTG y se postula que tienen un papel mediador colinérgico en la generación

del sueño REM y la otra población es la de células REM-off que fueron primero encontradas en el locus coeruleus (Hobson et al., 1973; Chu y Blomm, 1974), postulándose que tienen un papel noradrenérgico permisivo, por desinhibición de las células REM-on.

La diferencia fisiológica esencial entre la vigilia y el sueño REM parece deberse a la actividad de las células REM-off, supuestamente modulatorias y localizadas en varios núcleos aminérgicos en todo el tallo cerebral, principalmente a nivel pontomesencefálico. Esos núcleos aminérgicos se encuentran distribuidos en el tegmento pontino y su frecuencia de descarga decrece durante el sueño REM, además pueden desinhibir a las neuronas REM-on. Las poblaciones modulatorias REM-off se encuentran distribuidas más ampliamente de lo que se había propuesto e incluye al menos dos grupos químicamente distintos: las subpoblaciones noradrenérgica y la serotoninérgica; que se encuentran concentradas al menos en tres regiones del tallo cerebral: en el núcleo del rafe dorsal en el locus coeruleus y en la región peribraquial. Muchos núcleos del tallo cerebral contienen células de ambos tipos (REM-on y REM-off), eso indica que el oscilador del sueño REM, es más complejo de lo que previamente se había sugerido. Durante el sueño REM, se han registrado neuronas por todo el cerebro y se ha demostrado que están activadas en mayor o menor grado, como lo que se observa en el estado de vigilia (Steriade y Hobson, 1976).

Como ya se mencionó, en varios estudios se propone la participación de distintas poblaciones neuronales de la formación reticular pontina en la generación y conservación del sueño REM, así como de algunos mensajeros químicos como la acetilcolina y la noradrenalina. Sin embargo, aunque se tienen evidencias sobre el papel que desempeña el FTG y algunos mensajeros químicos en el sueño REM, se desconoce como se llevan a cabo eventos importantes de la neurotransmisión en esa región, así como la interacción entre el sistema adrenérgico y el sistema colinérgico. Por lo que se tuvo interés en determinar la participación adrenérgica del FTG para conocer las posibles interacciones adrenérgica y colinérgica propuestas en el modelo de interacción recíproca (Hobson et al., 1975; McCarley y Hobson, 1975). Los estudios de liberación de acetilcolina en la preparación rebanadas de FTG nos permiten valorar los efectos adrenérgicos sobre la liberación de acetilcolina, utilizando fármacos adrenérgicos como el isoproterenol (agonista beta 1,2 adrenérgico) y el propranolol (antagonista beta 1, 2 adrenérgico). El hacer uso del isoproterenol es porque tiene una mayor afinidad por su receptor que la noradrenalina. Por otro lado el propranolol se usó porque es un fármaco antagonista beta 1, 2, al contrario del isoproterenol que es un agonista beta 1, 2. Las concentraciones usadas son equivalentes, porque se tomó para ello su constante de afinidad al receptor.

Los resultados obtenidos en los experimentos a los que no se les indujo despolarización y en presencia de DL-Isoproterenol durante la superfusión, indican que la liberación de [3H]-ACh dependiente de Ca<sup>++</sup> se vio afectada por el fármaco (ver figura 10). Este resultado es muy interesante porque el fármaco empleado es un agonista adrenérgico que provocó liberación de [3H] ACh en

condiciones no despolarizantes.

Los efectos provocados por el fármaco pudieron deberse a:

1) Un efecto mediado por el receptor beta, debido a que el fármaco empleado es agonista beta adrenérgico, y no se valoró la liberación del transmisor con el receptor alfa, por lo que sería interesante valorar este aspecto.

2) O bien a otros efectos, como es la posibilidad de que la droga tenga acción directa sobre las membranas celulares provocando la liberación de [3H]-ACh. Esta alternativa es posible porque tomando en cuenta que para que haya liberación del transmisor se necesita un estímulo despolarizante (Katz y Miledi, 1967) y la presencia de  $Ca^{++}$  externo, y que en esta parte experimental sólo se cumplió la segunda condición. Los resultados obtenidos de experimentos a los que se les indujo la liberación con un estímulo despolarizante de  $K^{+}$  (47 mM) en presencia de DL-Isoproterenol durante la superfusión obtuvimos que la liberación de [3H]-ACh no se afectó por este fármaco (ver figura 11). Respecto a los resultados obtenidos de los experimentos con propranolol encontramos lo siguiente:

a) La liberación de [3H]-ACh dependiente de  $Ca^{++}$  sin inducir la despolarización y en presencia de DL-Propranolol durante la superfusión, no se vió afectada por este fármaco (ver figura 10).

b) Cuando la liberación de [3H]-ACh dependiente de  $Ca^{++}$  es inducida con un medio despolarizante de  $K^{+}$  (47 mM) en presencia de DL-Propranolol (5 nM) durante la superfusión (ver figura 11) la liberación de [3H]-ACh no se vió afectada por el fármaco. Estos resultados nos harían pensar de:

1) la existencia de una neurona local de tipo adrenoceptivo que inhiba la participación adrenérgica, sin afectar la liberación de [3H]-ACh.

2) que el receptor beta adrenérgico no tenga que ver con la liberación de [3H]-ACh y si probablemente el receptor alfa, que no valoramos, y que sería interesante estudiar.

Un punto que hay que destacar es que el uso de los fármacos para encontrar la posible participación adrenérgica en la liberación de [3H]-ACh del FTG no fue del todo apropiada. Por lo que un primer paso a seguir es caracterizar la liberación de la noradrenalina en este núcleo. Sin embargo, con los resultados obtenidos de los fármacos se contempla la posibilidad de la participación adrenérgica sobre la liberación de [3H]-ACh.

Estos resultados no intentan implicar a la acetilcolina como único neurotransmisor involucrado en la comunicación neuronal del FTG, sino también la participación de otros sistemas neuronales, como el adrenérgico o tal vez el serotoninérgico, propuestos en el modelo de interacción recíproca (Hobson y McCarley, 1975). Estos hallazgos son importantes porque involucran la participación neuronal de células colinérgicas en una zona de la formación reticular pontina que por estudios farmacológicos y electrofisiológicos se apoya que está involucrada en el sueño REM.

Los resultados en términos del modelo de interacción recíproca (Hobson y McCarley, 1975) son muy preliminares para tratar de rechazar o aceptar el modelo, porque nuestros resultados sólo nos indican que hay liberación de [3H]-ACh en el FTG, y una posible interacción con el sistema adrenérgico. Por lo que cabe demostrar

la participación de otros neurotransmisores, como son la serotonina y algún otro neurotransmisor no contemplado en el modelo de interacción recíproca. Un punto importante que cabe resaltar, es que el planteamiento original del modelo de interacción recíproca que involucra dos o tres núcleos para la explicación de la generación del sueño, es tan sencillo que nos ayudó a hacer aportaciones de un fenómeno tan complejo, sin embargo, en este modelo ya se han involucrado otros núcleos.

Por otro lado, el método utilizado no fue del todo apropiado, debido a que sólo nos da una estimación de tipo cualitativo, por lo que no pudimos medir diferencias cuantitativas exactas, observadas al aplicar los fármacos. Sin embargo, como una primera fase para el conocimiento de la participación de ciertos neurotransmisores en la comunicación neuronal sí es importante. De alguna manera este método nos ayudó a valorar la participación de la acetilcolina como neurotransmisor en el FTG. Por lo que se sugiere el empleo de técnicas que complementen los resultados de este trabajo, utilizando mediciones cuantitativas. Se sugiere el uso de fármacos más específicos a un tipo de receptor, con la finalidad de saber si los efectos producidos por los fármacos, en nuestras condiciones experimentales, son mediados por algún tipo de receptor o bien son debido a un efecto inespecífico.

Como se pudo visualizar, el FTG se encuentra localizado en la formación reticular pontina, región que no sólo está involucrada con el ciclo vigilia-sueño. El papel funcional de la FR del tallo cerebral es objeto de varios comentarios.

La formación reticular es receptora de información de la mayor parte de los sistemas sensitivos y tiene conexiones eferentes, directas o indirectas, a todos los niveles del neuroeje. La FR está integrada al sistema motor del cerebro y médula espinal e incluye "centros que regulan las funciones viscerales" (Siegel, 1979).

La estimulación de este sistema permite desencadenar cambios respiratorios, vasomotores, modificaciones de la tonicidad muscular y de los movimientos fásicos, cambios de la actividad eléctrica de la corteza, de la actividad de los centros subcorticales, efectos sobre las neuronas sensoriales, cambios bioeléctricos en el cerebelo.

La formación reticular es la estructura integradora más importante debido a que es la región en donde convergen e interactúan los impulsos de todas modalidades sensoriales, así como de las fuentes cerebrales y cerebelares. Esta región capaz de modificar la actividad neural de dichas fuentes de estímulos y de suprimir o amplificar la excitabilidad de muchas neuronas. Por otra parte puede facilitar inhibir o modificar la transmisión de información neural aún a través de vías específicas.

Queda establecido que la formación reticular del tallo cerebral no sólo participa en el control del ciclo vigilia-sueño, sino también en múltiples funciones que pueden estar relacionadas con la participación de las neuronas colinérgicas presentes en el FTG.

### 13. CONCLUSIONES

- Queda establecido el papel de acetilcolina como neurotransmisor en el FTG.
- Los resultados nos indican que existen terminales colinérgicas en el FTG.
- Los mecanismos colinérgicos parecen tener un papel importante en el proceso de comunicación neuronal en el FTG.
- La liberación de [3H]-ACh en rebanadas de FTG requiere de un incremento en la concentración de  $Ca^{++}$  externo, señalándose que la liberación del tranmisor es totalmente dependiente de  $Ca^{++}$ .

#### 14. REFERENCIAS

- Adams, D.B. (1968). The activity of single cells in the midbrain and hypothalamus of the cat during affective defense behavior. Arch. Ital.Biol. 106, 243-269.
- Amassian, V. E. and Devito, R. V. (1954). Unit activity in reticular formation and nearby structures. J. Neurophysiol. 17, 575-603.
- Amatruda, T., Black, D.A., Mc Kenne, T., Mc Carley, R., Hobson, J. A. (1975). Sleep cycle control and cholinergic mechanisms: Differential effects of carbacol injections at pontine brain stem sites. Brain Research. 98, 501-515.
- Armstrong, D. M., Saper, C. B., Levey, A. I., Wainer, B. I., Terry, R. D. (1983). Distribution of cholinergic neurons in the rat brain: Demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. J. Com. Neurol. 216, 53-68.
- Arnolds, D. E. A. T., Lopes da Silva, F. H., Kamp, A. and Aitnik, W. (1977). Motor acts and firing of reticular neurons correlated with operantly reinforced hippocampus theta shifts. Brain Research. 85, 194-195.
- Aserinsky, E., Kleitman, N. (1953). Regulatory occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. Science. 28, 273-274.
- Aston-Jones, G. and Bloom, F. E. (1981). Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. J. Neurosci. 1, 876-886.
- Azmitia, E. C. y Segal, M. (1978). An autoradiographic analysis of the differential descending projections of the dorsal and medial raphe nuclei in the rat. Journal of Neuroscience. 179, 641-688.
- Bach-y-Rita, P. (1964). Convergent and long-latency unit responses in the reticular formation of the cat. Exp. Neurol. 9, 327-344.
- Baghdoyan, H. A., Rodrigo-Angulo, M. L., McCarley, R. W., and Hobson, J. A. (1984). Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. Brain Research. 306, 39-52.
- Baghdoyan, H. A., Rodrigo-Angulo, M. L., McCarley, R. W., and Hobson, J. A. (1982). Cholinergic induction of desynchronized sleep signs by carbachol microinjection shows intrapontine site differentiation. Sleep Research. 11, 51.
- Baker, T. L., Dement, W. C. (1985). Canine narcolepsy cataplexy syndrome: Evidence for an inherited monoaminergic cholinergic imbalance. In Brain Mechanisms of sleep. ed. D. McGinty, A. Morrison, R. R. Drucker-Collin, P. L. Parmeggiani, pp. 111-138. New York: spectrum. pp 199-234.
- Balzano, E and Jeannerod, M. (1970). Activite multi-unitaire de structures sous-corticales pendant le cycle veille-sommeil chez le chat. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 28, 136-145.
- Baxter, B. L. (1969). Induction of both emotional behavior and a novel form of REM sleep by chemical stimulation applied to cat mesencephalon. Experimental Neurology. 23, 220-229.
- Bell, C., Sierra, G., Buendia, N. and Segundo, J. P. (1964). Sensory properties of neurons in the mesencephalic reticular

- formation. *J. Neurophysiol.* 27, 961-997.
- Benoit, O., and V. Bloch. (1960). Seuil d' excitabilité réticulaire et sommeil profond chez le chat. *J. Physiol.* (Paris). 52, 17-18.
  - Berger, H. (1930). Uber das elektroencephalogramm des menchen. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* 87, 527-570
  - Berluchi, G. L. Maffei, G. Moruzzi and P. Strata. (1963). Mécanismes hypnogenes du trone de l'encéphale antagonistes du systeme réticulaire activateur. In: Aspects anatomo-fonctionnels de la physiologie du sommeil, a Symposium, edited by M. Jouvet. Paris: Centre Natl. Rech. Sci., p. 89-101.
  - Bertrand, F. and Hugelin, A. (1971). Respiratory synchronizing function of nucleus parabrachialis medialis: pneumotoxic mechanisms. *J. Neurophysiol.* 34, 189-207.
  - Bertrand, F., Hugelin, A. and Vibert, J. F. (1973). Quantitative study of anatomical distribution of respiration related neurons in the pons. *Exp. Brain Res.* 16, 383-399.
  - Best, P. J., Mays, L.E. and Olmstead, C. E. (1973). Activity of midbrain reticular formation units during conditioned freezing. In M.I. Phillips (Ed). *Brain Unit Activity During Behavior*, Charles C. Thomas, 155-164 pp.
  - Bizzi, E., and D. C. Brooks. (1963). Functional connections between pontine reticular formation and lateral geniculate nucleus during deep sleep. *Archs. ital. Biol.* 101, 666-680.
  - Bowker, R. M. and Morrison, A. R. (1976). The startle reflex and PGO spikes. *Brain Res.* 102, 185-190.
  - Bradley, W. E. and Conway, C. J. (1966). Bladder representation in the pontine-mesencephalic reticular formation. *Exp. Neurol.* 16, 237-249.
  - Breedlove, S. M., Mc Ginty, D. J. and Siegel, J. M. (1979). Operant conditioning of FTG units. *Physiol. Behav.* in press.
  - Bremer, F. (1935). Cerveau isole et physiologie du sommeil. *Comptes Rendues de la Societe de Biologie* (Paris). 118, 1235-1241.
  - Brodal, A., y Rossi G. F. (1955). Ascending fibers in brain stem reticular formation of cat. *Arch. Neurol Psychiat.* (Chicago). 74, 68-87.
  - Brooks, D. C. (1968). Localization and characteristics of the cortical waves associated with eye movement in the cat. *Exp. Neurol.* 22, 603-613.
  - Brooks, D. C. and Bizzi, E. (1963) Brain-stem electrical activity during deep sleep. *Archs ital. Biol.* 101, 648-665.
  - Brooks, D. C. and Gershon, M. D. (1971). Eye movement potentials in the oculomotor and visual systems of the cat: A comparison of reserpine-induced waves with those present during wakefulness and rapid eye movement sleep. *Brain Res.* 27, 223-239.
  - Buendia, N., G. Sierra, M. Goode, and J. P. Segundo. (1963). Conditioned and discriminatory responses in wakeful and in sleeping cats. *Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. Suppl.* 24: 199-218.
  - Burguet, A., Petitjean, F. and Jouvet, M. (1970). Suppression des pointes PGO du sommeil par lesion ou injection in situ de 6-hydroxidopamine au niveau du tegmentum pontique. *C. R. Soc. Biol.* 164, 2293-2298.
  - Burton, H. (1968). Somatic sensory properties of caudal bulbar

- reticular neurons in the cat (*Felis domestica*). *Brain Research*. 11, 357-372.
- Cadilhac, J., T. Passouant-Fontaine, and P. Passouant. (1962). L'organisation des divers stades du sommeil chez le chaton, de la naissance a 45 jours. *J. Physiol. (Paris)*. 54, 305-306.
  - Candia, O., Rossi, G. F. and Sekino, T. (1962). Brain stem structures responsible for the electroencephalographic patterns of desynchronized sleep. *Science*. 155, 720-722.
  - Carli, G. and Zanchetti, A. (1965). A study of pontine lesions suppressing deep sleep in the cat. *Arch. ital. Biol.* 103, 751-788.
  - Casey, K. L. (1971). Escape eliciting by bulbo-reticular stimulation in the cat. *Int. J. Neurosci.* 2, 29-34.
  - Celestia, G. G., Jasper, H. H. (1966). Acetylcholine released from cerebral cortex in relation to state of activation. *Neurology*. 16, 1053-1064.
  - Chase, M. H., Enomoto, S., Murakami, T., Nakamura, Y. and Taira, M. (1981). Intracellular potential of medullary reticular neurons during sleep and wakefulness. *Expl. Neurol.* 71, 226-233.
  - Chu, N. S., Bloom, F. E. (1974). Norepinephrine containing neurons: changes in spontaneous discharge patterns during sleeping and waking. *Science*. 179, 908-910.
  - Cohen, M. I. (1971). Switching of the respiratory phases and evoked phrenic responses produced by rostral pontine electrical stimulation. *J. Physiol.* 217, 133-158.
  - Cohen, B. and Henn, V. (1982). Unit activity the pontine reticular formation associated with eye movements. *Brain Research*. 46, 403-410.
  - Cohen, B. and Komatsuzaki, A. (1972). Eye movements induced by stimulation of the pontine reticular formation. Evidence for integration in oculomotor pathways. *Expl Neurol.* 35, 101-117.
  - Cordeau, J. P., Moreau, A., Beauvies, A. and Laurin, C. (1963). EEG and behavioral changes following microinjections of acetylcholine and adrenaline in the brain stem of the cat. *Arch. Ital. Biol.* 101, 30-47.
  - Coyle, J. T., Price, D. L., DeLong, M. R. (1983). Alzheimer's disease. A disorder of cortical cholinergic innervation. *Science*. 219, 1184-1190.
  - Cronin, M. J. and Baker, M. A. (1977). Thermosensitive neurons in the cat. *Brain Research*. 128, 461-472.
  - Cuello, A. C. and Sofroniew, M. V. (1984). The anatomy of the CNS cholinergic neurons. *Trends in Neuro Sciences*. 7, 74-78.
  - Curthoys, I. S., Nakao, S. and Markham, C. H. (1981). Cat medial pontine reticular neurons related to vestibular nystagmus: Firing patterns, location and projection. *Brain Research*. 222, 75-94.
  - Dahlstrom, A., and Fuxe, K. (1964). Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. *Acta Physiologica Scandinavica*. 63 (Suppl. 232), 1-55.
  - Delorme, F., J. L. et Jouvét, M. (1966). Suppression du sommeil par la p-chlorométhamphétamine et parachlorophénylalanine. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*. 160, 2347.
  - Delorme, F., Froment, L. Jouvét, M. (1967). Suppression du sommeil par la parachlorophénylalanine. *C. R. Soc. Biol.*, 161,

2347.

- Dement, W., Kleitman, N. (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relations to eye movement, body motility and dreaming. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 9, 673-690.
- Drucker-Colin, R. R., Bernal-Pedraza, J. G., Diaz-Mitoma, F.J. and Zamora-Quezada, J. (1977). Oscillatory changes in multiple unit activity during rapid eye movement sleep. *Exp. Neurol.* 57, 331-341.
- Drucker-Colin, R., and Bernal-Pedraza, J. (1983). Kainic acid lesions of gigantocellular tegmental field (FTG) neurons does not abolish REM sleep. *Brain Research.* 272, 387-391.
- Duesing, F. and Schaffer, K. P. (1957). Die neuronenaktivitat in der formatio reticularis des rhombencephalons beim vestibularen nystagmus. *Arc. Psychiat.* 196, 265-290.
- Escobar, A., C. Guzman-Flores, and M. Alcaraz. (1963). Conexiones de la corteza visual con el tronco cerebral. Estudio anatómico en el gato. *Biol. Inst. Estud. Med. Biol. (Mex).* 21, 93-104.
- Faingold, C. L. and Caspary, D. M. (1977). Changes in reticular formation unit response patterns associated with pentylenetetrazol-induced enhancement of sensory evoked responses. *Neuropharmacology.* 16, 143-147.
- Falck, B. (1964). Cellular localization of monoamines in biogenic amines. In: *Progress in Brain Research*, edited by H. G. Himwich Amsterdam: Elsevier. vol. 8, 28-44.
- Farber, J., Marks, G. A. and Roffwarg, H. P. (1980). Rapid eye movement sleep PGO-type waves are present in the dorsal pons of the albino rat. *Science.* 209, 615-617.
- Fields, H. L., Clanton, C. H. and Anderson, S. D. (1977). Somatosensory properties of spinoreticular neurons in the cat. *Brain Research.* 120, 49-66.
- Fonnum, F., (1975). A rapid radiochemical method for the determination of choline acetyltransferase. *J. Neurochem.* 24, 407-409.
- Foote, S. L., Aston-Jones, G. and Bloom, F. E. (1980). Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 3033-3037.
- Fricke, V. (1975). Tritosol: a new scintillation cocktail based on Triton-X-100. *Anal. Biochem.* 63, 555-558.
- Fuchs, A. F. and Luschei, E. S. (1972). Unit activity in the brainstem related to eye movement: possible inputs to the motor nuclei. *Bibl. Ophthal. (Basel).* 82, 17-27.
- Fung, S., Boxer, P.A., Morales, E., Chase, M. (1982). Hyperpolarizing membrane responses induced in lumbar motoneurons by stimulation of the nucleus reticularis pontis oralis during active sleep. *Brain Reserach.* 248: 267-273.
- Gadea-Ciria, M., Stadler, H., Lloyd, K. G., Bartholini, G. (1973). Acetylcholine release the cat striatum during the sleep-wakefulness cycle. *Nature.* 243, 518-519.
- Gallager, D. W. y Aghajanian, G. K. (1976). effect of antipsychotic drugs on the firing of dorsal raphe cells, 2. Reversal by picrotoxin. *European Journal of Pharmacology.* 39, 357-364.
- Gassel, M. M., Marchiafava, P. L. and Pompeiano, O. (1964).

- Phasic changes in muscular activity during desynchronized sleep in unrestrained cat. An analysis of the pattern and organization of myoclonic twitches. *Archs ital. Biol.* 102, 449-470.
- Gassel, M. M., Marchiafava, P. L. and Pompeiano, O. (1965). Activity of the red nucleus during deep desynchronized sleep in the unrestrained cat. *Archs ital. Biol.* 103, 369-396.
  - George, R., W. L. Haslett and D. J. Jenden. (1964). A cholinergic mechanism in the brain stem reticular formation: induction of paradoxical sleep. *Inter. J. Neuropharmacol.* 3, 541-556.
  - Glenn, L. L., Foutz, A. S., Dement, W. C. (1978). Membrane potential of spinal motoneurons during natural sleep in cats. *Sleep.* 1, 199-204.
  - Goebel, H. H., Komatsuzaki, A., Bender, M. B. and Cohen, B. (1971). Lesions of the pontine tegmentum and conjugate gaze paralysis. *Archs Neurol.* 24, 1076-1088.
  - Gogan, P., Gueritaud, J.P., Horcholle-Rossavit, G. and Tyc-Dumont, S. (1973). Inhibitory nystagmic interneurons. Physiological and anatomical identification within the abducens nucleus. *Brain Research.* 59, 410-416.
  - Golberg, A. M. and Mc Caman, R. E. (1973). The determination of picomole amounts of acetylcholine in mammalian brain. *J. Neurochem.* 20, 1-8.
  - Gottesman, C. (1969) Etude sur les activites electrophysiologiques phasiques chez le rat. *Physiol. Behav.* 4, 295-304.
  - Grastyan, E., and G. Karmos. (1961). A study of a possible "dreaming" mechanism in the cat. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 20, 41-50.
  - Grillner, S. and Shik, M. L. (1973). On the descending control of the lumbosacral spinal cord from the mesencephalic locomotor region. *Acta physiol. scand.* 87, 320-333.
  - Groves, P. M., Miller, S. W., Parker, M. V. and Rebec, G. V. (1973). Organization by sensory modality in the reticular formation of the rat. *Brain Research.* 54, 207-224.
  - Hendricks, J. C., Morrison, A. R. and Mann, G. L. (1982). Different behaviors during paradoxical sleep without atonia depend upon pontine lesion site. *Brain Res.* 239, 81-105.
  - Henn, V. and Cohen, B. (1976). Coding of information about rapid eye movements in the reticular formation of alert monkeys. *Brain Research.* 108, 307-325.
  - Henley, K., Morrison, A. D. (1974). A re-evaluation of the effects of lesions of the pontine tegmentum and locus coeruleus on phenomena of paradoxical sleep in the cat. *Acta Neurobiol. Exp.* 34, 215-232.
  - Henriksen, S. J., Jacobs, B. L., Dement, W. C. (1972). Dependence of REM sleep PGO waves on cholinergic mechanisms. *Brain Research.* 48, 412-416.
  - Hernández-Feón, R., Morgane, P. J. and Timo-Lara, C. (1963). Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotion behavior. *Exp. Neurol.* 8, 93-111.
  - Hess, W. R. (1933). Le sommeil. *Comptes Rendues de Biologie.* 107, 1333-1364.
  - Hess, R. W., Koella, P. and Akent, K. (1953). Cortical and subcortical recordings in natural and artificially induce sleep

- in cats. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 5, 75-90.
- Heym, J., Steinfeld, G. F. y Jacobs, B. L. (1982). Activity of serotonin-containing neurons in the nucleus raphe pallidus of freely moving cats. *Brain Research.* 251, 259-276.
  - Highstein, S. M., Maekawa, K., Steinacker, A. and Cohen, B. (1976). Synaptic input from the pontine reticular nuclei to abducens motoneurons and internuclear neurons in the cat. *Brain Res.* 27, 377-396.
  - Hikosaka, O. and Kawakami, T. (1977). Inhibitory reticular neurons related to the quick phase of vestibular nystagmus - their location and projection. *Exp. Brain Res.* 27, 377-396.
  - Hikosaka, O., Igusa, Y., Nakao, S. and Shimazu, H. (1978). Direct inhibitory synaptic linkage of pontomedullary reticular burst neurons with abducens motoneurons in the cat. *Exp. Brain Res.* 33, 337-352.
  - Hobson, J. A., McCarley, R. W., Fivik, T. and Freedman, R. (1974). Selective firing by cat pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. *J. Neurophysiol.* 37, 497-511.
  - Hobson, J. A., Goldberg, M., Vivaldi, E. y Riew, D. (1983). Enhancement of desynchronized sleep signs after pontine microinjection of the muscarinic agonist bethanecol. *Brain Research.* 275, 127-136.
  - Hobson, J. A., McCarley, R. W. (1975). Sleep cycle oscillation: Reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science.* 189, 55-58.
  - Hobson, J. A., McCarley, R. W., Fivik, R. T., and Freedman, R. (1975). Selective firing by cat pontine brainstem neurons in desynchronized sleep. *Journal of Neurophysiology.* 37, 1297-1309.
  - Hobson, J. A. (1975). The cellular basis of sleep cycle control. In : *Advances in Sleep Research*, pp. 217-250. Ed. E. Weitzman. Spectrum, New York.
  - Hobson, J. A., Goldberg, M., Vivaldi. (1983). Enhancement of desynchronized sleep signs after pontine microinjections of the muscarinic agonist bethanecol. *Brain Res.* 275, 127-136.
  - Hobson, J. A., McCarley, R. W. and Nelson, J. P. (1986). Location and spike-train characteristics of cells in anterodorsal pons having selected decreases in firing rate during desynchronized sleep. *Journal of Neurophysiology.* 50, 770-783.
  - Hodes, R. (1964). Ocular phenomena in the two stages of sleep in the cat. *Exptl. Neurol.* 9, 36-43.
  - Holstege, G., Kuypers, H. G. J. M. and Dekker, J. J. (1977). The organization of the bulbar fibre connections to the trigeminal, facial and hypoglossal motor nuclei. *Brain.* 100, 265-286.
  - Hornby, J. B. and Rose, J. D. (1976). Responses of caudal brainstem neurons to vaginal and somatosensory stimulation in the rat and evidence of genital nociceptive interactions. *Exp. Neurol.* 51, 363-376.
  - Hoshino, K. and Pompeiano, O. (1976). Selective discharge of pontine neurons during the postural atonia produced by an anticholinesterase in the decerebrate cat. *Arch. ital. Biol.* 114, 244-277.
  - Hoshino, K., Pompeiano, O., Magherini, P. C. and Mergner, T. (1976). The oscillatory system responsible for the oculomotor activity during the bursts of REM. *Arch. ital. Biol.* 114, 278-

- Howard, J. L. and Breese, G. R. (1974). Physiological and behavioral effects of centrally-administered 6-hydroxidopamine in cats. *Pharmac. Biochem. Behav.* 2, 651-661.
- Hubel, D. H. (1960). Single unit activity in lateral geniculate body and optic tract of unrestrained cats. *J. Physiol. (London)*. 150, 91-104.
- Huttenlocher, P. R. (1961). Evoked and spontaneous activity in single units of medial brain stem during natural sleep and waking. *J. Neurophysiol.* 24, 451-468.
- Igusa, Y., Sasaki, S., and Shimazu, H. (1980). Excitatory premotor burst neurons in the cat pontine reticular formation related to the quick phase of vestibular nystagmus. *Brain Res.* 182, 451-468.
- Ingle, D. and Sprague, S. M. (1975). Sensorimotor function of the midbrain tectum. *Neurosci. Resp. Progr. Bull.* 13, 169-288.
- Ito, K. and McCarley, R. W. (1984). Alterations in membrane potential and excitability of cat medial pontine reticular formation neurons during changes in naturally occurring sleep-wake states. *Brain Research.* 292, 169-175.
- Jacobs, B. L., Asher, R., Dement, W. C. (1973). Electrophysiological and behavioral effects of electrical stimulation of the raphe nuclei in cats. *Physiol. Behav.* 11, 489-496.
- Jacobs, B. L. and Jones, B. E. (1978). The role of central monoamine and acetylcholine systems in sleep-wakefulness states: mediation or modulation? In: *Cholinergic-Monoaminergic interactions in the Brain*, pp. 271-290. Ed. L. L. Butcher. Academic Press, New York.
- Jansen, J. (1956). On the efferent connections of the cerebellum, en Progress in Neurobiology, Elsevier, Amsterdam.
- Jasper, H. y Tessier, J. (1971). Acetylcholine liberation from cerebral cortex during paradoxical sleep. *Science.* 1972: 601-602.
- Jeannerod, M., and J. Mouret. (1963). Recherches sur les mécanismes des mouvements des yeux observés au cours de la veille et du sommeil. *Pathol. Biol. Semaine Hop.* 11, 1053-1060
- Jeannerod, M., Mouret, J. et Jouvét, M. (1965). Effets secondaires de la déafferentation visuelle sur l'activité électrique phasique ponto-geniculo-occipital du sommeil paradoxal. *J. Physiol. (Paris)*. 57, 225-256.
- Jones, B. E. (1977). Elimination of paradoxical sleep by lesions of the pontine gigantocellular tegmental field in the cat. *Neuroscience Letters.* 13, 285-293.
- Jones, B. E., Bobillier, P. and Jouvét, M. (1969). Effets de la destruction des neurones contenant des catecholamines du mesencephale sur le cycle veille-sommeil du chat. *C. R. Soc. Biol.* 163, 176-180.
- Jones, B. E., Harper, S. T. and Halaris, A. E. (1977). Effects of locus coeruleus lesions upon cerebral monoamine content, sleep wakefulness states and the response to amphetamine in the cat. *Brain Res.* 124, 473-496.
- Jouvét, M. (1962). Recherches sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. *Arch. ital. Biol.* 100, 125-206.
- Jouvét, M. and Delorme, F. (1965). Locus coeruleus et sommeil

- paradoxal. C.S. Soc. Biol. (Paris). 159, 895-899.
- Jouvét, M. (1967). Physiological Reviews. The American Physiological Society. 47, 117-165.
  - Jouvét, M. (1969). Biogenic amines and the states of sleep. Science. 163, 32-41.
  - Jouvét, M. (1972). The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. *Ergebn. Physiol.* 64, 166-307.
  - Jouvét, M. and Michel, F. (1959). Correlations électromyographiques du sommeil chez le chat décortiqué et mésencéphalique chronique. C. R. Soc. Biol. 153, 1599-1604.
  - Jouvét, M. and Delorme, J. F. (1965). Locus coeruleus et sommeil paradoxal. C. R. Soc. Biol. 159, 895-899.
  - Jouvét, M., Michel, F. and Courjon, J. (1959). Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. *Comp. Rend. Soc. Biol.* 153, 1024-1028.
  - Jouvét, M. (1965). Behavioral and EEG effect of paradoxal sleep deprivation in the cat. In proceeding of the 23rd International Congress of Physiological Sciences. Tokyo, 4. *Excerpta medica Internal. Congress Series.* 87, 344-355.
  - Jouvét, M., J. Dechaume, and F. Michel. (1960). Etude des mécanismes du sommeil physiologique. *Lyon Med.* 204, 479-521.
  - Kanamori, N., Sakai, K., Jouvét, M. (1980). Neuronal activity specific to paradoxical sleep in the ventromedial medullary reticular formation of restrained cats. *Brain Research.* 189, 251-255.
  - Kaneko, C. R. S., Evinger, C. and Fuchs, A. F. (1981). Role of cat pontine burst neurons in generation of saccadic eye movements. *J. Neurophysiol.* 46, 387-408.
  - Kanzow, E., Krause, D. and Hubnel, H. (1962). Die vasomotorik der Hirnrinde in den phase desynchronisierter EEG aktivität im natürlichen schlaf der katze. *Pflüger. Arch. Gen. Physiol.* 274, 539-607.
  - Kasamatsu, T. (1979). Maintained and evoked unit activity in the mesencephalic reticular formation of the freely moving cat. 28, 450-470.
  - Katayama, Y., DeWitt, D. S., Becker, D. P., Hayes, R. L. (1984). Behavioral evidence for a cholinceptive pontine inhibitory area: Descending control of spinal motor output and sensory input. *Brain Research.* 296: 241-262.
  - Kaufman, L. S. and Morrison, A. R. (1981). Spontaneous and elicited PGO spikes in rats. *Brain Res.* 214, 61-72.
  - Keller, E. L. (1974). Participation of medial pontine reticular formation in eye movement generation in monkey. *J. Neurophysiol.* 37, 316-332.
  - Kimura, H., McGeer, F. L., Peng, J. H. and McGeer, E. G. (1981). The central cholinergic system studied by choline acetyltransferase immunohistochemistry in the cat. *Journal of Comparative Neurology.* 200, 151-201.
  - Kimura, H., Maeda, T. (1982). Aminergic and cholinergic systems in the dorsolateral pontine tegmentum. *Brain Research. Bull.* 9, 403-499.
  - Kleitman, N. (1929). *Sleep. Physiol. Rev.* 9, 629-665.
  - Klemm, W. R. (1970). Correlation of hippocampal theta rhythm, muscle activity, and brain stem reticular formation activity.

Commun. Behav. Biol. 5, 147-151.

- Klemm, W. R. (1972). Ascending and descending influences in the brain stem reticulum: a re-examination. Brain Res. 36, 444-452.

- Knox, C. K. and King, G. M. (1976). Changes in the Breuer-Hering reflexes following rostral pontine lesion. Respir. Physiol. 28, 189-206.

- Koranyi, L., Whitmoyer, D. I. and Sawyer, C. H. (1977). Effect of thyrotropin-releasing hormone, luteinizing hormone-releasing and somatostatin on neuronal activity of brain stem reticular formation and hippocampus in the female rat. Exp. Neurol. 57, 807-816.

- Laurent, J. and Guerrero, F. A. (1975). Reversible suppression of ponto-geniculo-occipital waves by localized cooling during paradoxical sleep in cats. Expl. Neurol. 49, 356-369.

- Lee, H. K., Chai, C. Y., Chung, P. M. and Chen, C.C. (1977). Medullary unit responses to changes in local and hypothalamic temperatures in the cat. Brain Res. Bull. 2, 375-380.

- Lee, H. K. and Chai, C. Y. (1976). Temperature-sensitive neurons in the medulla oblongata of the cat. Brain Research. 104, 163-165.

- Lena, C. and P. L. Parmeggiani. (1964). Ippocampo e sonno attivato. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 40, 130-133.

- Lewis, F. R., Shute, C. y Rosenburg, (1967). The cholinergic limbic system: Projections to hippocampal formation, medial cortex, nuclei of the ascending cholinergic reticular system and subfornical organ and supra-optic crest. Brain. 110, 521-540.

- Lidbrink, P. (1974). The effect of lesions of ascending noradrenaline pathways on sleep and waking in the rat. Brain Res. 74, 19-40.

- Llinás, R. and Heuser, J. E., (1977). Depolarization-release coupling systems in neurons. Neurosci. Res. Progr. Bull. 15, 557-687.

- Llinás, R. and Nicholson, Ch. (1975). Calcium role in depolarization-secretion coupling: an aequorin study in squid giant synapse. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 72, 187-190.

- Llinás, R. y Jahnsen, H. (1982). Electrophysiology of mammalian thalamic neurons in vitro. Nature. 297, 406-408.

- Loomis, A., Havey, E. and Hobart, G. (1937). Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. J. Exp. Psychol. 21, 127-144.

- López-Colomé, A. M., Tapia, R., Salceda, R. and Pasantes-Morales, H. (1978). K<sup>+</sup>-stimulated release of labeled GABA, glycine and taurine in slices of several regions of rat central nervous system. Neuroscience. 3, 1067-1074.

- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275.

- Luscher, E. S. and Fuchs, A. F. (1972). Activity of brain stem neurons during eye movements of alert monkeys. J. Neurophysiol. 35, 445-461.

- Lydic, R. and Qrem, J. (1979). Respiratory neurons of the pneumotaxic center during sleep and wakefulness. Neurosci. Lett. 15, 187-192.

- Lydic, R. (1983). Enhancement of dorsal raphe discharge by

medial pontine reticular formation stimulation depends on behavioral state. *Neuroscience Letters*. 38, 35-40.

- Lydic, R. (1984). Forced activity alters sleep cycle periodicity and dorsal raphe discharge rhythm. *American Journal of Physiology*. 247, 135-145.

- Lydic, R. (1985). Timing function of the raphe dorsal nucleus and the temporal organization of the ultradian sleep cycle. In: *Experimental brain research, Supplement 12, Ultradian rhythm in physiology and behavior*, ed. H. Schultz y P. Lavie. Springer. Pp. 125-144.

- Macadar, A. W., Chalupa, L. M. and Lindsey, D. E. (1974). Differentiation of brain stem loci which affect hippocampal and neocortical electrical activity. *Expl. Neurol.* 43, 499-514.

- Magherini, F. C., Pompeiano, O., Thoden, U. (1971). The neurochemical basis of REM sleep: A cholinergic mechanism responsible for rhythmic activation of the vestibulo-oculomotor system. *Brain Research*. 35, 565-569.

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

- Marchiafava, P. L. and Pompeiano, O. (1964). Pyramidal influences on spinal cord during desynchronized sleep. *Archiv. ital. Biol.* 102, 500-529.

- Marks, G. A., Farber, J., Rubenstein, M. and Roffwarg, H. P. (1980). The demonstration of ponto-geniculo-occipital waves in the albino rat. *Exp. Neurol.* 69, 648-666.

- Martin, G. F., Cabana, T., Humbertson, A. O., Lakson, L. C. and Panneton, W. M. (1981). Spinal Projections from the medullary reticular formation of the North American opossum: Evidence for connectational heterogeneity. *J. comp. Neurol.* 196, 663-682.

- Massarelli, R., Gorio, A., Dreyfus, H. (1982). Influx, metabolism and efflux of choline in nerve cells and synaptosomes: role of sialocompounds and glyconjugates. *J. Physiol., Paris*. 78, 392-398.

- McCarley, R. W. and Hobson, J. A. (1971). Single neuron activity in cat gigantocellular tegmental field selectivity of discharge in desynchronized sleep. *Neuroscience*. 174, 1250-1252.

- McCarley, R. W. (1978). Control of sleep-waking state alterations in *Felis domesticus*. In: *Neuroscience Symposia Vol. III: Aspects of Behavioral Neurobiology*, Society for Neuroscience, pp. 90-128.

- McCarley, R. W. and Hobson, J. A. (1975). Neuronal excitability over the sleep cycle: a structural and mathematical model. *Science*. 189, 58-60.

- McCarley, R. W. and Ito, K. (1983). Intracellular evidence linking medial pontine reticular formation neurons to PGO wave generation. *Brain Research*. 280, 343-348.

- McCarley, R. W., Nelson, J. P. and Hobson, J. A. (1978). Ponto-geniculo-occipital (PGO) burst neurons: Correlative evidence for neuronal generators of PGO waves. *Science*. 201, 269-272. Raven Press, New York.

- McGinty, D. J. y Harper, R. M. (1976). Dorsal raphe neurons: Depression of firing during sleep in cats. *Brain Research*. 101, 1569-575.

- McGinty, D. J., Harper, R. M. and Fairbanks, M. K. (1974). Neuronal unit activity and the control of sleep states. In

Advanc. in Sleep Res. 1, 173-216.

- McGinty, D. J., Drucker-Colin, R. R. (1982). Sleep mechanisms: Biology and control of REM sleep. *Int. Rev. Neurobiol.* 23, 391-436.

- Mesulam, M. M., Mufson, E. J., Wainer, B. H., Levey, A. I. (1983). Central cholinergic pathways in the rat: An overview based on an alternative nomenclature. *Neuroscience.* 10, 1185-1201.

- Michel, F., M. Jeannerod, J. Mouret, A. Rechtschaffen and M. Jouvet. (1964). Sur les mécanismes de l'activité de pointes au niveau du système visuel au cours de la phase paradoxale du sommeil. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 158, 103-106.

- Mikiten, T., Niebyl, P. and Hendeley, C. (1961). EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharge from the thalamus of the cat. *Federation Proc.* 20, 327.

- Miledi, R. (1973). Transmitter release induced by injection of calcium ions into nerve terminals. *Proc. R. Soc. Lon. [ Biol.].* 183, 421-425.

- Mitler, M. and Dement, W. (1974). Cataplectic-like behavior in cats micro-injection of carbachol in the pontine reticular formation. *Brain Research.* 68, 335-343.

- Morrison, A. R. (1979). Brain-stem regulation of behavior during sleep and wakefulness. *Prog. Neurobiol. Physiol. Psychol.* 8, 91-131.

- Morrison, A. R., and O. Pompeiano. (1965). Central depolarization of group I afferent fibers during desynchronized sleep. *Arch. Ital. Biol.* 103, 517-537

- Morin, F. (1953). Afferent projections to the midbrain tegmentum and their spinal course. *Amer. J. Physiol.* 172, 483-496.

- Moruzzi, G. and Magoun, H. W. (1949). Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 1, 455-473.

- Moruzzi, G. (1960). Synchronized influences of the brain stem and the inhibitory mechanisms underlying the production of sleep by sensory stimulation. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. Supplement* 13, 231-256.

- Motokizawa, F. (1974). Electrophysiological studies of olfactory projection to the mesencephalic reticular formation. *Exp. Neurol.* 44, 135-144.

- Mouret, J., Jeannerod, M. and Jouvet, M. (1963). L'activité électrique du système visuel au cours de la phase paradoxale du sommeil chez le chat. *J. Physiol., Paris.* 55, 305-306.

- Mravotich, S., Kumada, M. and Reis, D. J. (1982). Role of the nucleus parabrachialis in cardiovascular regulation in cat. *Brain Res.* 232, 57-75.

- Mulder, A. H. and Snyder, S. H. (1974). Potassium-induced release of amino acids from cerebral cortex and spinal cord slices of the rat. *Brain Res.* 76, 297-308.

- Nauta, W. J. (1946). Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. *J. Neurophysiol.* 285-315.

- Nauta, W. J. H. y Kuypers, H. G. J. M. (1958). Some ascending pathways in the brain stem reticular formation, en *Reticular Formation of the Brain*, Henry Ford Hospital Symposium Eds. H. H. Jasper y cols. Little Brown and Co., Boston.

- Nelson, J. P., McCarley, R. W. and Hobson, J. A. (1981). Cross-correlation of PGO burst cell firing with eye movement potentials of the alert cat. *Neurosci. Abstr.* 7, 80.
- Nelson, J. P., McCarley, R. W. and Hobson, J. A. (1983). REM sleep burst neurons, PGO waves, and eye movement information. *J. Neurophysiol.* 50, 784-797.
- Nishikawa, T. y Scatton, B. (1983). Evidence for a GABAergic inhibitory influence on serotonergic neurons originating from the dorsal raphe. *Brain Research.* 279, 325-329.
- Okuma, T. and M. Fujimori. (1963). Electrographic and evoked potential studies during sleep in the cat. *Folia. Psychiat. Neurol. Japon.* 17, 25-30.
- Olds, J., Mink, W. D. and Best, P. J. (1969). Single unit patterns during anticipatory behavior. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 26, 144-158.
- Orlovskii, G. N. (1970). Work of the retico-spinal neurones during locomotion. *Biophysics.* 15, 761-771.
- Panksepp, J., Jalowiec, J. E., Morgane, P. J., Zolovick, A. J. and Stern, W. C. (1973). Noradrenergic pathways and sleep-waking states in cats. *Expl. Neurol.* 41, 233-245.
- Panneton, W. M. and Martin, G. F. (1983). Brainstem projections to the facial nucleus of the opossum. A study using axonal transport techniques. *Brain Res.* 267, 19-33.
- Papez, J. W. (1926). Reticular-spinal tracts in the cat. *J. Comp. Neur.* 41, 365-399.
- Parmeggiani, F. L., and G. Zanocco. A. (1963). A study on the bioelectrical rhythms of cortical and subcortical structures during activated sleep. *Arch. Ital. Biol.* 101, 385-412.
- Peterson, B. W., Pitts, N. G. and Fukushima, K. (1979). Reticulospinal connections with limb and axial motoneurons. *Expl Brain Res.* 36, 1-20.
- Pivik, R. T., McCarley, R. W. and Hobson, J. A. (1977). Eye movement-associated discharge in brain stem neurons during desynchronized sleep. *Brain Res.* 121, 59-76.
- Pompeiano, O. (1980). Cholinergic activation of reticular and vestibular mechanisms controlling posture and eye movements. In: *The Reticular Formation Revisited*, pp. 473-512. Eds. J. A. Hobson and M. A. B. Brazier, Raven Press, New York.
- Ramm, P. (1979). The locus coeruleus, catecholamines, and REM sleep: A critical review. *Behav. Neurol. Biol.* 25, 415-448.
- Rasmussen, K., Heym, J. and Jacobs, B. L. (1982). Unit activity of serotonin-containing neurons in the nucleus centralis superior in freely moving cats. *Neurosci. Abstr.* 8, 896.
- Rechtschaffen, A. and Kales, A. (Eds), Berger, R. J., Dement, W. C., Jacobson, A., Johnson, L. C., Jouvett, M., Monroe, L. L., Oswald, I., Roffwarg, H. P., Roth, E. and Walter, R. D. (1968). A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Public Health Service, U. S. Government Printing Office. Washington, D. C. N. I. H. Publication. 204, 58.
- Rimbaud, L. P. Passouant, and J. Cadilhac. (1953). Participation de l'hippocampe a la régulation des états de veille et de sommeil. *Rev. Neurol.* 93, 303-308.
- Robinson, T. E. and Vanderwolf, C. H. (1978). Electrical stimulation of the brain stem in freely moving rats: II. Effects

on hippocampal and neocortical electrical activity, and relations to behavior. *Exptl. Neurol.* 61, 485-515.

- Rouss, B., Buguet, A., Bobillier, P. and Jouvet, M. (1967). Locus coeruleus-sommeil paradoxal et noradrenaline cerebrale. *C. R. Soc. Biol.* 161, 2537-2541.

- Saito, H., Sakai, K. and Jouvet, M. (1977). Discharge patterns of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. *Brain Res.* 134, 59-72.

- Sakai, K. (1980). Some anatomical and physiological properties of ponto-mesencephalic tegmental neurons with special reference to the PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. In: *The Reticular Formation Revisited*, pp. 427-447. Eds. J. A. Hobson and M. A. B. Brazier. Raven Press, New York.

- Sakai, K. and Jouvet, M. (1980). Brain stem PGO-on cell projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* 194, 500-505.

- Sakai, K., Petitjean, F. and Jouvet, M. (1979). Effects of ponto-mesencephalic lesions and electrical stimulation upon PGO waves and EMPs in unanesthetized cats. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 41, 49-63.

- Sakai, K. (1985). Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. In *Brain Mechanisms of Sleep*, ed. D. McGinty, A. Morrison, R.R. Drucker-Collin, P. L. Parmeggiani, pp. 111-138. New York: Spectrum.

- Saper, C. B., Loewy, A. D. (1982). Projections of the pedunculo-pontine tegmental nucleus in the rat: Evidence for additional extrapyramidal circuitry. *Brain Res.* 252, 367-372.

- Sastre, J. P., Sakai, K. and Jouvet, M. (1978). Bilateral lesions of the dorsolateral pontine tegmentum. II. Effect upon muscle atonia. *Sleep Res.* 7, 44.

- Sastre, J. P., Sakai, K., and Jouvet, M. (1981). Are the gigantocellular tegmental field neurons responsible for paradoxical sleep? *Brain Research.* 229, 147-161.

- Satoh, K., Armstrong, D. M. y Fibiger, H. C. (1983). A comparison of the distribution of central cholinergic neurons as demonstrated by acetylcholinesterase pharmacohistochemistry and choline acetyltransferase immunohistochemistry. *Brain Research Bulletin.* 11, 693-720.

- Scheibel, M. E. y Scheibel, A. B. (1958). Structural substrates for integrative patterns in the brain stem reticular core, en *Reticular Formation of the Brain*, Henry Ford Hospital Symposium. Eds. H. H. Jasper y cols. Little Brown y Co., Boston.

- Sheu, Y. S., Nelson, J. P., Bloom F. E. (1974). Discharge patterns of cat raphe neurons during sleep and waking. *Brain Research.* 73: 263-276.

- Shiromani, P., McGinty, D. J. (1986). Pontine neuronal responses to local cholinergic infusion: relation to REM sleep. *Brain Research.* In Press.

- Shiromani, P., Siegel, J., Tomaszewski, K. y McGinty, D. (1983). Alterations in blood pressure and REM sleep following pontine carbachol microinfusion. *Experimental Neurology.* 91, 285-292.

- Shiromani, K., Armstrong, D. M., Groves, P. M. y Gillin, J. C. (1987). Combined neurophysiological and immunohistochemical mapping of the medial-lateral pontine reticular

and related rostral systems. In: The reticular Formation revisited. ed. J. A. Hobson y M.A.B. Brazier. Raven Press.

- Sterman, M. B. and Fairchild, M. D. (1966). Modification of locomotor performance by reticular formation and basal forebrain stimulation in the cat: evidence for reciprocal systems. *Brain Research*. 2, 205-217.

- St. John, W. M., Glasse, R. L. and King, R. A. (1971). Apneustic breathing in cats with chronic pneumotoxic center lesions. *Respir. Physiol.* 12, 293-250.

- Tapia, R. (1985). Effects of drugs on neurotransmitter release: experiment in vivo and in vitro. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 9, 391-397.

- Tapia, R. and Meza-Ruiz, G. (1977). Inhibition by ruthenium red of the calcium-dependent release of [3H]GABA in synaptosomal fractions. *Brain Research*. 126, 160-166.

- Tapia, R. and Sitges, M. (1982). Effect of 4-aminopyridine on transmitter release in synaptosomes. *Brain Research*. 250, 291-299.

- Tokizane, T. (1965). Hypothalamic control of cortical activity and some observations during different stages of sleep. In: *Aspects anatomo-fonctionnels de la physiologie du sommeil*, a Symposium, edited by M. Jouvet. Paris: Centre Natl. Rech. Sci. p. 151-184.

- Torvik, A. y Brodal, A. (1957). The origin of reticulospinal fibers in the cat. An experimental study. *Anat. Rec.* 128, 113-137.

- Umemoto, M., Murai, Y., Kodama, M. and Kido, R. (1970). Neuronal discharge patterns in conditioned emotional response. *Brain Research*. 24, 347-351.

- Van Dongen, P. A., Broekamp, I. E., Coola, A. R. (1978). Atonia after carbachol microinjections near the locus coeruleus in cats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 8, 527-532.

- Vertes, R. P. (1981). An analysis of descending brain stem systems involved in hippocampal synchronized and desynchronization. *J. Neurophysiol.* 46, 1140-1159.

- Vertes, R. P. (1984). Brain stem control of the events of REM sleep. *Progress in Neurobiology*. 22, 241-228.

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

- Vertes, R. P. and Miller, N. E. (1976). Brain stem neurons that fire selectively to a conditioned stimulus for shock. *Brain Research*. 103, 229-242.

- Vertes, R. P. (1979). Brain stem gigantocellular neurons: Patterns of activity during behavior and sleep in the freely moving rat. *J. Neurophysiol.* 50, 48-58.

- Vertes, R. P. (1982). Brain stem generation of the hippocampal EEG. *Prog. Neurobiol.* 19, 159-186.

- Vilbert, J. F., Bertrand, F., Denavit-Saubie, M. and Hugelien, A. (1976). Three dimensional representation of bulbo-pontine respiratory networks architecture from unit density maps. *Brain Research*. 114, 227-244.

- Vivaldi, E., McCarley, R. W. and Hobson, J. A. (1980). Evocation of desynchronized sleep signs by chemical microstimulation of the pontine brainstem. In: *The reticular formation revisited*, ed. J. A. Hobson and M. A. B. Brazier

(eds.). The reticular formation revised: specifying function for a non specific system. Raven IBRO Monog. Serv., New York. 6, 513-529.

- Von Economo, C. (1908). Sleep as a problem of localization. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 7, 249-259.

- Wonnacott, S., Marchbanks, R. M. and Fiol, C. (1978).  $Ca^{2+}$  uptake by synaptosomes and its effect on the inhibition of acetylcholine release by botulinum toxin. *J. Neurochem.* 30, 1127-1134.

- Watzel, M. C. and Stuart, D. G. (1976). Ensemble characteristics of cat locomotion and its neural control. *Progr. Neurobiol.* 7, 1-98.

- Wilson, F. M., (1985). A photographic perspective on the origins, form, course and relations of the acetylcholinesterase containing fibres of the dorsal tegmental pathway in the rat brain. *Brain Res. Rev.* 10, 85-118.

- Winters, W. D., Mori, K., Spooner, C. E. and Kado, R. T. (1967). Correlation of reticular and cochlear multiple unit activity with auditory evoked responses during wakefulness and sleep. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 23, 539-545.

- Yoshida, K., McCrear, R., Berthoz, A. and Vidal, P. P. (1982). Morphological and physiological characteristics of inhibitory burst neurons controlling horizontal rapid eye movements in the alert cat. *J. Neurophysiol.* 48, 761-784.

- Young, D. W. and Gottschaldt, K. M. (1976). Neurons in the rostral mesencephalic reticular formation of the cat responding specifically to noxious mechanical stimulation. *Exp. Neurol.* 51, 628-636.