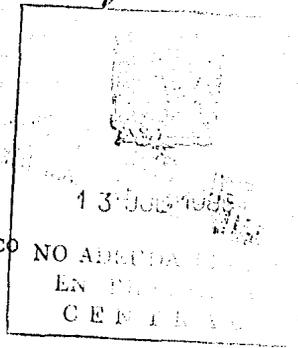


29/109



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DEL POLIPEPTIDO VASOACTIVO INTESTINAL (VIP) SOBRE EL
INSOMNIO INDUCIDO POR VARIOS FARMACOS EN GATOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

L I C E N C I A D O E N B I O L O G I A

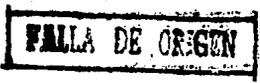
P R E S E N T A

A N A B E L J I M E N E Z A N G U I A N O

DIRECTOR DE TESIS: DR. RENE RAUL DRUCKER COLIN

MEXICO, D. F.

J U N I O 1 9 8 9





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

I-. RESUMEN.....	2
II-. INTRODUCCION	4
- ASPECTOS FENOMENOLOGICOS	4
- FILOGENIA DEL SUEÑO	7
- ANATOMIA FUNCIONAL DEL SUEÑO	13
- TEORIA MONOAMINERGICA	17
- TEORIA COLINERGICA	23
- TEORIA DE LOS FACTORES INDUCTORES	27
- FACTOR INDUCTOR DE SUEÑO DELTA O DSIP	28
- FACTOR S	29
- SUSTANCIA PROMOTORA DE SUEÑO	31
- PROTEINAS Y SUEÑO	33
- NEUROPEPTIDOS Y SUEÑO MOR	36
III-. OBJETIVOS	40
IV-. MATERIAL Y METODO	41
V-. RESULTADOS	44
VI-. DISCUSION	51
VII-. CONCLUSIONES	58
VIII-. BIBLIOGRAFIA	59

RESUMEN

La participación de la Ach, 5-HT y NE en la modulación de el ciclo sueño-vigilia ha sido sugerida por varios investigadores. No obstante, su participación no es del todo clara, ya que además han sido propuestas otras substancias como responsables de la aparición de sueño. Recientemente, se han propuesto a los neuropéptidos como responsables de la modulación de sueño MOR. En este contexto, se ha demostrado que el Polipéptido Vasoactivo Intestinal (VIP) aumenta el tiempo total de sueño MOR en gatos y ratas normales o pretratadas con paraclorofenilalanina (PCPA). Además, debido a la estrecha relación que parece existir entre el VIP y los transmisores mencionados, es posible que el efecto inductor de sueño MOR de este neuropéptido esté mediado por alguno de estos neurotransmisores. El objetivo del presente trabajo es demostrar si el VIP ejerce su efecto a través de alguno de dichos sistemas. Para su efecto, se llevó a cabo el presente estudio que constó de 2 partes. En la primera los animales fueron divididos en 6 grupos (n=12). Cada uno de los grupos fue tratado con uno de los siguientes fármacos: Atropina (0.5 mg/kg, i.p una hora antes del registro), Clonidina (0.01 mg/kg, p.o., una hora antes del registro), Propranolol (10 mg/kg, p.o. una hora antes del registro), CAP (tres inyecciones i.p de 150 mg/kg i.p. espaciadas por 12 horas, la última se administró una hora antes del registro) y PCPA (dos inyecciones i.p. de 400 mg/kg espaciadas por 24 hrs. La segunda se administró 24 hrs antes del registro). Además, un grupo permaneció sin tratamiento, para la determinación de los valores normales. Posteriormente, los grupos tratados fueron divididos en

dos (n=6), uno de ellos recibió 200 ng de VIP o 50 ul de solución salina IVT. En la segunda parte del estudio, todos los gatos fueron pretratados con PCPA, y se dividieron en 2 grupos (n=12). El grupo I: recibió atropina y el grupo II: clonidina (bajo el esquema ya descrito). Después, ambos grupos fueron divididos (n=6) para administrarles VIP o salina . Al final de la inyección IVT se registraron durante 11 horas continuas. Los resultados de la primera parte muestran que el VIP sólo tiene efecto en el insomnio producido por la PCPA, incrementando el sueño MOR y SOL I y II, a expensas de una reducción en la vigilia. Los resultados de la segunda parte, muestran que la atropina restituye el sueño MOR en los gatos insomnes por PCPA. Dicho efecto fué facilitado por el VIP. Mientras que la clonidina no modificó el insomnio producido por la PCPA, pero previno el efecto inductor de sueño MOR del VIP. Estos datos sugieren, que los efectos del VIP son mediados por una interacción con la Ach, la cuál a su vez, es parte de un balance que se mantiene con la 5-HT y la NA, para la inducción de sueño MOR.

INTRODUCCION.

ASPECTOS FENOMENOLOGICOS DEL SUEÑO.

Dentro de las actividades biológicas desarrolladas por los organismos, el sueño representa uno de los eventos más importantes en la historia natural de cada especie; encontrándose ampliamente difundido a lo largo de toda la escala filogenética, y representando una manifiesta necesidad biológica que ocupa un enorme espacio temporal y presenta una ritmicidad determinada.

Sin embargo, a pesar de que el sueño es una de las conductas más frecuentes, aún no se ha investigado lo suficiente por lo que continúa representando un enigma biológico.

En un principio, el estudio del sueño se limitó solo a la evaluación conductual, la cual dió datos poco claros debido a que no permitía la correlación entre los periodos de actividad-reposo del sujeto con los diferentes estados funcionales del cerebro. Es hasta el desarrollo de la electroencefalografía, por Hans Berger en la década de los 20's (Ver Jouvét, 1969) cuando su estudio fue mas completo. El EEG permitió determinar que los estados de vigilia y sueño se acompañan de cambios activos en la corteza cerebral. Posteriormente, Aserinsky y Kleitman (1953), describieron una fase de sueño que coincide con movimientos oculares rápidos a la cual llamaron por esta razón sueño de movimientos oculares rápidos o sueño MOR. A esta fase, también se le ha dado el nombre de sueño paradójico (SP) (Jouvét, 1969), debido a que durante esta etapa se produce una desincronización del electroencefalograma, semejante a la vigilia. Actualmente,

podemos dividir al ciclo sueño-vigilia mediante el registro de los siguientes parámetros eléctricos:

Actividad cortical o Electroencefalograma (EEG), Movimientos oculares o Electroculograma (EOG) y Tono muscular o Electromiograma (EMG). Además pueden registrarse otras variables tales como la frecuencia respiratoria y cardiaca, así como ondas de actividad eléctrica específicas del cerebro para completar su estudio.

Se reconoce que el humano transita por varias etapas durante el ciclo sueño-vigilia, las cuales son:

Vigilia: El EEG se caracteriza por un ritmo alfa y/o actividad de bajo voltaje (ritmo beta) con frecuencias mezcladas. Usualmente el tono muscular esta elevado y hay presencia de movimientos oculares.

Sueño no MOR: Esta dividido en 4 estadios: Sueño no MOR: I, II, III y IV (Las dos últimas llamadas Sueño Delta o Sueño de ondas lentas).

Sueño no MOR I- EEG de actividad de bajo voltaje cerca de 50-75 μ v, y una frecuencia mayor de 5-7 Hz, apareciendo ocasionalmente las llamadas ondas del vertex con una amplitud mayor a 200 μ v.

Sueño no MOR II- Caracterizado por la presencia de husos de sueño y los complejos K. Los primeros con una frecuencia entre 12-14 Hz, con una duración mínima de 5 seg y formados por 6-7 ondas. Mientras que los segundos, representan ondas con un componente negativo seguido por un positivo con una duración mayor de 5 seg.

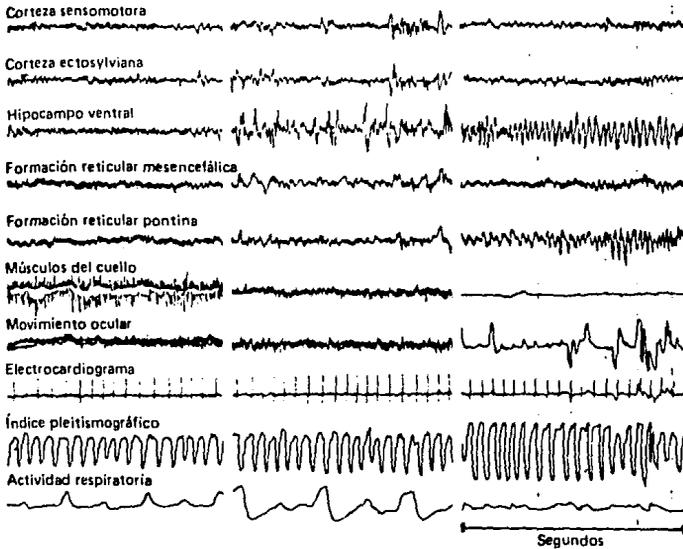
Sueño de ondas lentas III y IV o Sueño Delta.- Varía de acuerdo a su duración. El sueño lento III se identifica cuando existe por



Vigilia

Sueño ligero

Sueño paradójico



REPRESENTACION ELECTROFISIOLOGICA Y CONDUCTUAL DE EL CICLO SUEÑO-VIGILIA DEL GATO.

LA VIGILIA AL IGUAL QUE EL SUEÑO PARADJICO SE CARACTERIZA POR LA DESINCRONIZACION DE EL EEG MIENTRAS QUE DURANTE EL SUEÑO LIGERO SE SINCRONIZA. ASIMISMO, PUEDEN APRECIARSE OTRAS VARIABLES COMO EL TONO MUSCULAR Y LOS MOVIMIENTOS OCULARES QUE SE MODIFICAN DURANTE LAS DIVERSAS FASES DE SUEÑO.

lo menos un 20%, pero no más de un 50% de actividad lenta de 2 Hz, con una amplitud promedio de 75 microvolts. Mientras que en la fase de sueño lento IV hay mínimo un 50%. A lo largo, de todas estas fases el tono muscular y los movimientos oculares decrecen paulatinamente.

Sueño MOR- EEG con actividad de bajo voltaje, parecido a la vigilia, con la presencia de movimientos oculares aislados y en salvas y atonía muscular. El 90% de las ensoñaciones ocurren con esta fase (Rechtschaffen y Kales, 1968).

Por otra parte, el animal más utilizado para el estudio experimental del sueño, ha sido el gato. Las señales registradas son las mismas que en el humano, pero adicionalmente se registran ondas específicas, como por ejemplo las llamadas ondas ponto geniculo occipital (PGOs), registradas en el Cuerpo Geniculado Lateral, Corteza Occipital y Puente. Las fases del ciclo sueño-vigilia del gato son descritas de la siguiente forma: La vigilia cursa con una actividad cortical rápida (14-40 Hz) y de bajo voltaje, el electromiograma de los músculos posturales está muy activado y el cuerpo geniculado lateral exhibe potenciales que coinciden con los movimientos oculares, por lo que son denominados potenciales relacionados a movimientos oculares (EMPs).

Conforme la actividad electroencefalográfica se hace más lenta, se instala el sueño de ondas lentas (SOL) con la aparición de los llamados husos de sueño, que presentan una frecuencia de 5-6 Hz y representan el sueño de ondas lentas I (SOLI). Después, al disminuir su frecuencia (1-3 Hz) y aumentar su amplitud, aparece el sueño de ondas lentas II (SOLII). Durante

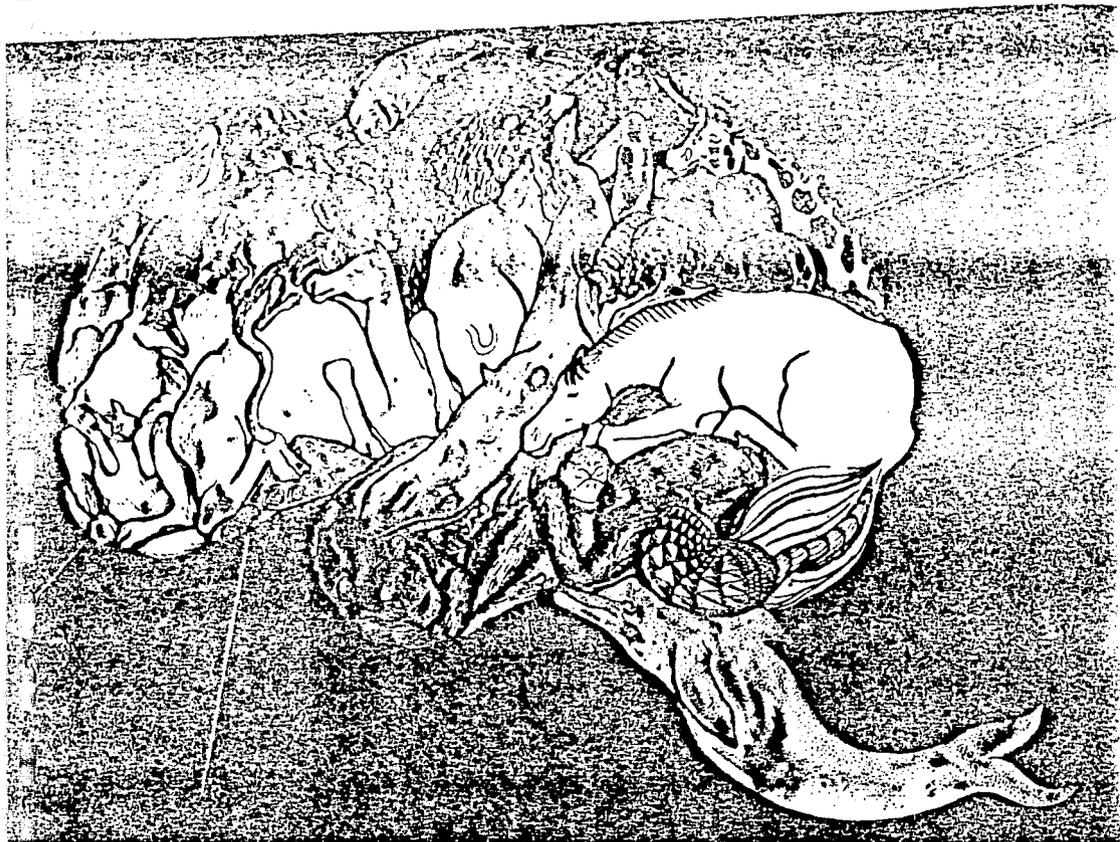
estos estados la actividad del tono muscular disminuye.

El sueño MOR o SP, cursa con desincronización cortical, movimientos oculares rápidos, atonía muscular y aparición de PGOs (Ursin y Sterman, 1981). La descripción fenomenológica del sueño con base en estos parámetros ha permitido la búsqueda de tales estadios de vigilancia en diversas especies. En la mayoría de ellas, se han descrito patrones de sueño que en relación al humano son incompletos, pero que sugieren la importancia del mismo en cualquier ser viviente.

FILOGENIA DEL SUEÑO

La investigación de los ciclos de actividad-reposo en diversas especies, ha demostrado que el sueño es una de las actividades más importantes en la historia natural de los organismos. Parece representar una necesidad biológica importante por su continua aparición, y por encontrarse difundido de forma extensa a lo largo de toda la escala filogenética. Por otra parte, el patrón del ciclo sueño-vigilia que observamos en animales superiores no es un patrón exclusivo en todo el reino animal. Por lo que parece que cada especie tiene un patrón específico de sueño conductual y electroencefalográfico, que depende de los mecanismos de adaptación al medio ecológico. Es necesario señalar que el estudio del sueño en algunas especies se reduce a la investigación del ciclo actividad-reposo. Suponemos que durante el reposo el animal duerme.

Evolutivamente, la aparición del sueño parece remontarse a los Invertebrados, al asociarse a un ritmo circádico actividad-



EN ESTA FIGURA SE SUGIERE ALEGORICAMENTE QUE EL SUEÑO SE ENCUENTRA
DIFUNDIDO A LARGO DE TODA LA ESCALA FILOGENÉTICA Y QUE EL CEREBRO
ES EL ÓRGANO RESPONSABLE DE SU CONTROL.

reposo claramente definido. Estudios de privación forzada del reposo en la cucaracha, Leucophaea maderae, demuestran un incremento en el tiempo de reposo durante las primeras horas de la fase oscura inmediata a la privación, y una disminución de la actividad locomotora de los movimientos de extremidades y antenas (Tobler, 1983).

Adicionalmente, se ha visto, que existen fluctuaciones circádicas de la actividad unitaria de las interneuronas del campo visual en la abeja de la miel (Apis mellifera) durante los periodos de luz y oscuridad. Asimismo, la sensibilidad de estas neuronas decrece conforme se establecen los periodos de oscuridad y es restaurada después de la aplicación de diversos estímulos visuales y mecánicos. Esto puede ser análogo a lo que ocurre durante el ciclo sueño-vigilia de los mamíferos (Kaiser, W y Steiner-Kaiser, J; 1983).

En los Vertebrados el sueño se ha estudiado de forma extensa. En peces, la mayoría de los estudios son realizados conductualmente, por tanto el sueño es correlacionado con los periodos de reposo o inactividad. En estos periodos se ha observado un aumento en la latencia para responder a diferentes estímulos en Scarus guacamaes, S. vetula y en S. coeruleus. (Tauber y Wetzman, 1969). Además, la respiración, observada por los movimientos de las agallas, disminuye durante la transición a y durante el reposo (Bert y Godet, 1963) (Ver Tauber, 1974). Estas evidencias han sido apoyadas por registros poligráficos realizados por Peyrethon y Dusan-Peyrethon, (1967), en donde observa disminución del tono muscular durante estos periodos. Sin

embargo, en una especie de Ciprinidos, Tinca tinca la actividad cortical permanece sin cambios durante la transición del periodo de actividad al de reposo.

En resumen, el ciclo sueño-vigilia determinado por medios electroencefalográficos y conductuales en peces revela la presencia de vigilia activa y quieta, sin la presencia de SOL y SP (Tobler, 1983).

En Anfibios, al igual que en peces, no se han detectado variaciones electrofisiológicas asociadas a los estados de sueño (Segura de Juan, 1966) (Ver Tauber, 1974), sin embargo, existen casos en donde se observan cambios. Estudios conductuales revelan que durante el periodo de reposo disminuye la actividad motora por periodos de tiempo relativamente grandes en Hyla squirella, H.septentrionalis y H.cinerea, así como los rangos respiratorios (Hobson, 1967). Estos hallazgos sugieren la presencia de sueño lento. Datos adicionales sobre la actividad cerebral hecho en larvas y en adultos de la Rana cataesbiana, muestran que la amplitud del EEG es menor en las formas jóvenes que en los adultos (Mc Ginty y Lucas, 1972) (Ver Tauber, 1974), sugiriendo que el proceso de la metamorfosis es importante en la expresión del sueño.

Los estudios conductuales y electrofisiológicos, hechos en anfibios muestran la presencia de vigilia quieta y activa y sugieren la presencia de SOL, pero no apoyan la existencia de la fase de sueño MOR.

En el grupo de los Reptiles, el sueño aparece más organizado, aunque todavía incompleto, observándose en los 5 ordenes presentes: Quelonias, Cocodrilia, Saurios, Serpentina y

Rhyncocefalia.

Registros poligráficos realizados en las tortugas Testudo marginata, Emis orbicularis y Terrapene carolina, muestran un establecimiento definido de SOL, así como en Caiman sclerops, C. latirostris; en Chamaleo jacksoni y Ch. melliri; en Iguana iguana; en Python sebae y en Ctenosaura pectinata, una lagartija mexicana.

Por otra parte el SP, solamente parece presentarse en algunos órdenes, con una reducción marcada del tono muscular y ráfagas fásicas de movimientos oculares. No se ha visto en las tortugas Testudo marginata y en Terrapene carolina, pero puede observarse en la tortuga europea Emys orbicularis (Vasilescu, 1970); en el Caiman latirostris (Peyrethon y Dusan-Peyrethon, 1969); en C. melleri (Tauber, 1966); en Python sebae (Peyrethon y Dusan-Peyrethon, 1967); y en Phynosoma regale (Romo, Cepeda y Velasco; 1978) (Ver Tauber, 1974). Aunque en el Caiman sclerops, C. melleri; y en Ctenosaura pectinata (Tauber, Rojas-Ramirez y Hernández-Peon; 1968), es difícil identificar el SP debido a que no hay diferencias en el tono muscular ni en la actividad cortical, aunque existen movimientos oculares. En base a estas evidencias es difícil concluir que el sueño MOR aparece en este grupo, sin embargo hay datos que sugieren su existencia.

Es hasta el grupo de las Aves en donde el ciclo sueño-vigilia se presenta de manera similar al del humano.

Registros poligráficos hechos en el Buho Speotyto canicularia (Berger y Walker, 1972), en el pollo (Klein, 1964) (Ver Tauber, 1974) y en el perico Aratinga canicularis (Ayala,

1980); muestran la presencia de dos estados de vigilia :la activa y la pasiva; después aparece progresivamente el SOL que está frecuentemente interrumpido por breves episodios de SP. Sin embargo, en el halcón Buho jamaicensis borealis y el falcón Herpetotefes cachinnans, no hay diferencias en la amplitud de la señal del EEG durante el paso de vigilia a sueño (Rojas-Ramírez y Tauber, 1970). Es importante señalar que aunque este grupo de vertebrados presenta sueño MOR, no es semejante al de los mamíferos, ya que por ejemplo, el tono muscular en la mayor parte de los géneros, solamente disminuye su actividad, pero no está ausente como en los mamíferos, además de que algunas especies no presentan movimientos oculares (Berger y Walker, 1972).

En algunos mamíferos, tales como Monotremas, Marsupiales y Placentarios , el ciclo sueño-vigilia consta de dos estados: vigilia y SL, sin SP (Allison, 1976).

En los Marsupiales y los Placentarios encontramos en todos los géneros estudiados, un ciclo sueño-vigilia más complejo. Debido probablemente al proceso de placentación, que ofrece la oportunidad de un período mayor de desarrollo y maduración del organismo, al momento de nacer.

Estudios, realizados en la Zarigüeya Didelphis marsupialis (Allison, 1976); y en la rata canguro Trichosorus vulpecula(Lopresti y McGinty, 1971) (Ver Allison, 1976), revelan la presencia de SOL y de sueño MOR. Esta última fase puede presentarse inmediatamente después de la vigilia sin que haya de por medio sueño lento, en marsupiales con un mes antes del término de la alimentación materna. En las formas juveniles y

en las adultas el ciclo sueño-vigilia no se modifica sustancialmente. Además, el desarrollo ontogénico del sueño es muy semejante al de los verdaderos placentarios.

Los Eutherios o verdaderos placentarios representan el grupo más evolucionado dentro de la escala filogenética. Estudios realizados en mamíferos marinos como la ballena Globicephala scammoni (Serafetinides, 1972) y en el delfín Tursiops truncatus (Mukhametov, 1977), muestran una asimetría electroencefalográfica interhemisférica durante la vigilia y el sueño, es decir que mientras un hemisferio cursa con sincronización cortical reconocida como sueño lento, el otro hemisferio permanece en vigilia, sugiriendo con esto que cada hemisferio podría funcionar como un cerebro independiente.

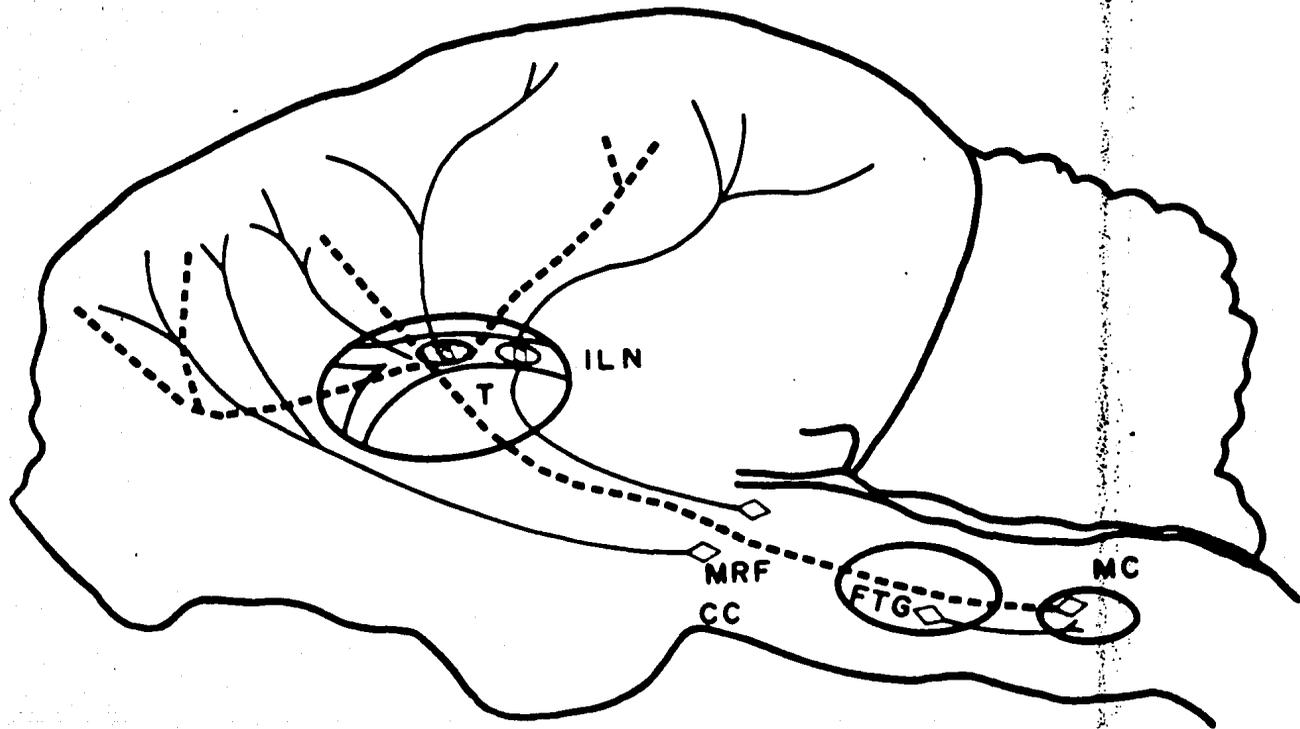
Pese a las ventajas de la electrofisiología como herramienta para la investigación del ciclo sueño- vigilia, aún permanece con serias limitaciones para el estudio de algunas especies. Probablemente, la ausencia de sueño en animales inferiores, como sugieren los estudios electrofisiológicos, sea debido a la carencia de los generadores neurofisiológicos apropiados. Sin embargo, la correlación de los diferentes estados de sueño con estructuras específicas del cerebro, impiden analizarlo desde un entorno general, ofreciendo una visión muy simplista de solamente algunas áreas involucradas con este estado, sin considerar las diversas condiciones medioambientales. Desde este enfoque, puede aclararse el significado del sueño, como parte integral de la adaptación de las especies para diferentes hábitos y vías de vida (Allison, 1976). Con base a estas evidencias podemos enfatizar

dos puntos: primero, los periodos de sueño o reposo ciertamente son una necesidad ineludible para cualquier organismo y segundo, los patrones poligráficos descritos para los mamíferos no se repiten en escalas inferiores. Sin embargo, esto no implica que si poligráficamente no presentan SOL y/o sueño MOR, funcionalmente tampoco. Esto solamente sugiere que los signos poligráficos que acompañan a estas fases no están presentes en todas las especies estudiadas, pero no descarta la posibilidad de que cierta actividad metabólica que ocurre en los mamíferos en dichas fases, como es el aumento de la síntesis de proteínas y la liberación de ciertas hormonas, ocurra en algún momento del período de reposo. Negar esta posibilidad conlleva al riesgo de negar la posibilidad de que se presente un período en el que un aporte de proteínas para la restauración neuronal ocurra.

ANATOMIA FUNCIONAL DEL SUEÑO.

Debido a que la descripción filogenética del sueño basado en los parámetros fenomenológicos continúa con serias limitaciones, se han utilizado diferentes enfoques para tratar de explicar su aparición. EL enfoque neuranatómico del sueño ha sido uno de los más antiguos y continúa utilizándose con gran frecuencia, debido a que describe la relación de las diversas regiones cerebrales y su conexión con los procesos del sueño.

Estudios iniciales realizados por Von Economo (1929); en pacientes muertos a causa de la encefalitis letárgica, muestran que los pacientes que se caracterizaron por un insomnio marcado durante la enfermedad, presentaban lesiones en el hipotálamo anterior, mientras que los que padecieron hipersomnia mostraban



REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LAS ESTRUCTURAS INVOLUCRADAS EN LA GENERACIÓN DEL EEG. COMO SE MUESTRA EN EL ESQUEMA LA FORMACIÓN RETICULAR MESENFÁLICA (FRM) Y EL NÚCLEO MAGNOCELULARIS (MC) MODULAN LA INFORMACIÓN HACIA LA CORTEZA CEREBRAL A TRAVÉS DE VÍAS QUE PASAN POR LOS NÚCLEOS INTRALAMINARES (ILN) DEL TÁLAMO (T) O MEDIANTE VÍAS DIRECTAS. CC = CRUZ CEREBRI Y FTG= CAMPO TEGMENTAL GIGANTOCELULAR.

lesiones en el hipotálamo posterior. Posteriormente, Ranson en 1931 (Ver Bremer, 1974), confirma dichos hallazgos, induciendo lesiones del hipotálamo anterior del mono y produciendo insomnio, pero las lesiones hechas en el hipotálamo posterior no producen ningún efecto. Sin embargo, Nauta en 1946, demuestra que lesiones hechas en el hipotálamo anterior de ratas producen insomnio y que lesiones a nivel de la unión del mesencéfalo y del hipotálamo posterior producen sueño. Esto sugirió la existencia de dos centros anatómicos responsables de la generación del sueño y la vigilia. De esta forma, Nauta propuso al hipotálamo posterior como centro de la vigilia el cuál inhibe activamente al centro del sueño localizado en el hipotálamo anterior.

Por otra parte, Hess en 1944, reportó que la estimulación eléctrica de la masa intermedia del talámo de gato produce un animal conductualmente dormido. Monnier, (1960), apoya estos resultados demostrando que la estimulación eléctrica de los núcleos intralaminares del talámo inducen sincronización del EEG y sueño, al que denominó posteriormente "sueño ortodoxo". Estos trabajos, evidencian de manera importante la participación del talámo para la aparición del sueño. Si embargo, Anderson en 1968 (Ver Bremer, 1974), demuestra que la destrucción de dicha área no produce insomnio, por lo que determina que esta estructura únicamente participa en la modulación del sueño pero no en su generación.

Trabajos posteriores han demostrado que existen otras estructuras involucradas en la aparición del ciclo sueño-vigilia. Bremer en 1935; realiza observaciones en dos preparaciones hechas

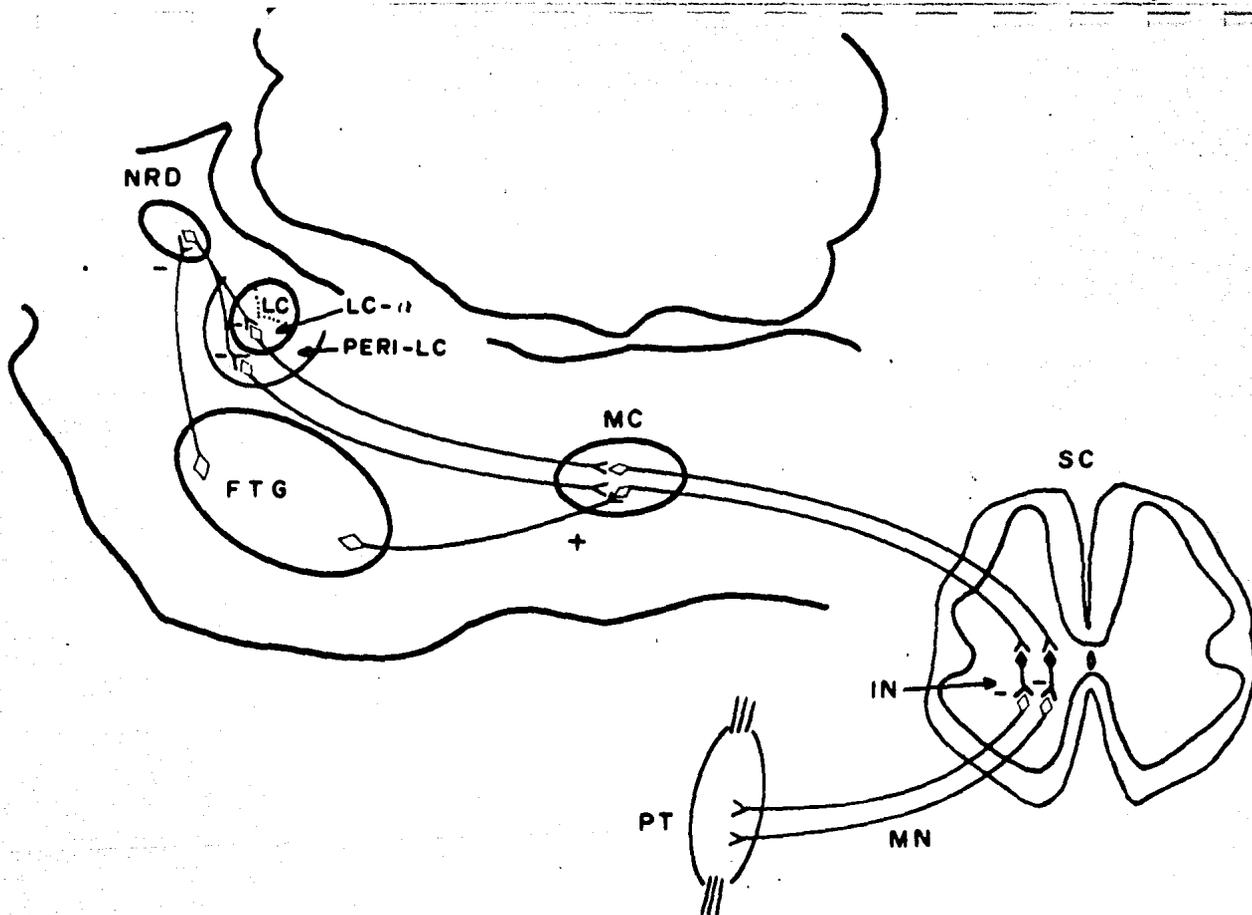
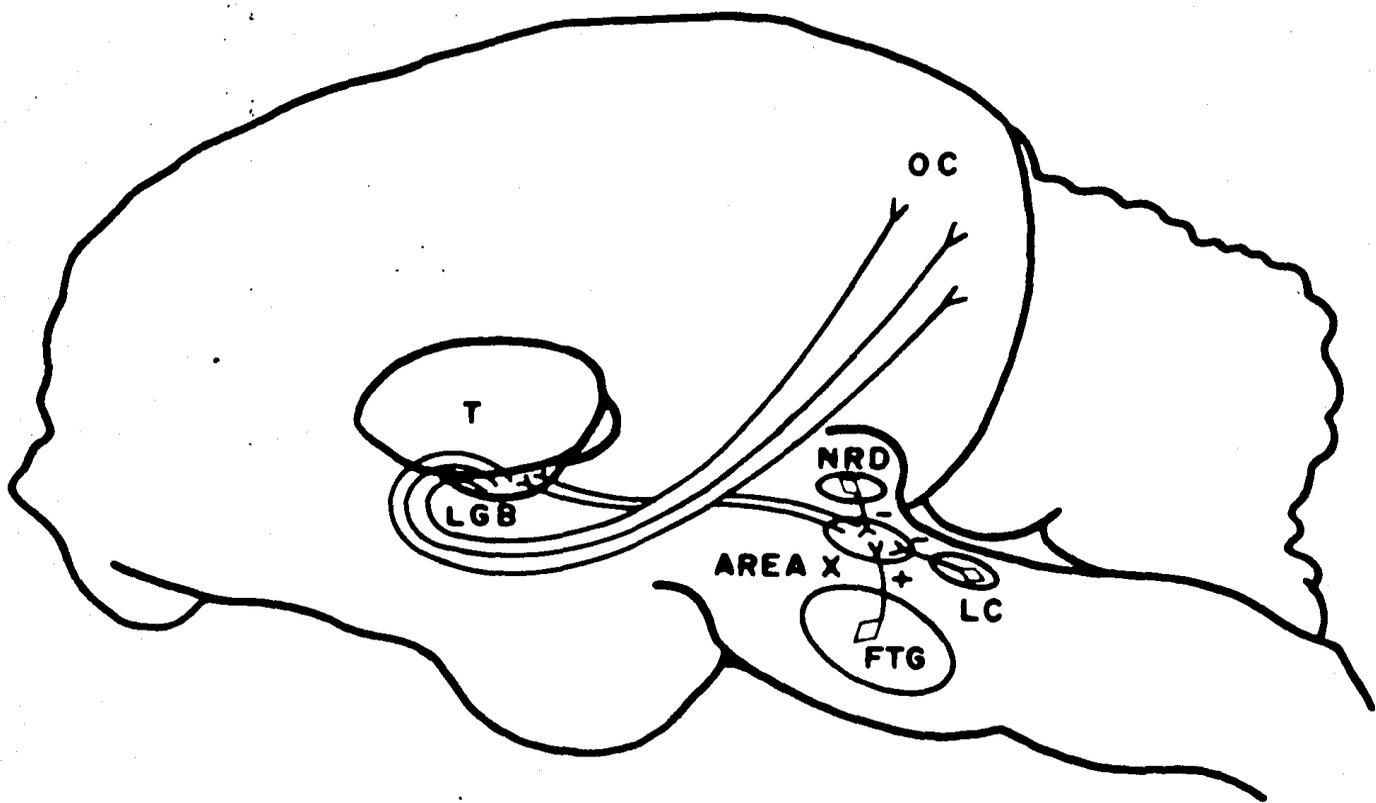


ILUSTRACIÓN QUE REPRESENTA LA MODULACIÓN DEL TONO MUSCULAR. EL COMPLEJO DEL LOCUS COERULEUS (LC) MANDA PROYECCIONES HACIA EL NÚCLEO MAGOCELEULARIS Y DE ALLÍ LLEGAN A LAS INTERNEURONAS (IN) DE LA MÉDULA ESPINAL (SC) LAS CUALES PRODUCEN UNA INHIBICIÓN DE LAS MOTONEURONAS (MN) Y EN CONSECUENCIA SE ABATE EL TONO MUSCULAR.
 NRD = NÚCLEO DEL RAPHE DORSALIS
 FTG = CAMPO TEGMENTAL GIGANTOCELULAR

en el gato mediante secciones finas a diferentes niveles del cerebro. Una de la preparaciones a la que denominó Cerebro aislado fué realizada al seccionar el cerebro a nivel intercolicular, separando la región anterior del cerebro del tallo cerebral, y registrando adicionalmente el EEG observa que hay una sincronización permanente, lo que interpretó como un animal constantemente dormido. Mientras que en la otra preparación ó Encefalo aislado que consistió en seccionar a nivel más caudal, entre médula oblongada y médula espinal, observó que no se modificaba el ciclo sueño-vigilia del gato. Por lo que Bremer concluyó, desde un punto de vista fisiológico, que el sueño es el producto de la llegada insuficiente de estímulos sensoriales capaces de despertar al animal; mientras que la vigilia es el caso contrario; la cantidad de estímulos que reciben es importante para mantenerlo despierto. Sugiriendo con esto, que el sueño, es un estado pasivo que depende de la disminución de la actividad sensorial. Sin embargo, Moruzzi y Magoum (1949) interpretan estos resultados desde otro enfoque. Ellos consideran la existencia de una estructura neuroanatómica responsable de generar dicho efecto, localizada entre ambas secciones. Esta idea los llevó a realizar sus trabajos de estimulación eléctrica de la formación reticular bulbar, del tegmento mesencefálico y pontino, así como del talámo y subtalámo en la preparación aguda del Encefalo aislado de gatos. Encontraron que la sola estimulación de dichas estructuras produce desincronización del EEG. Lo que sugirió la posibilidad de que la formación reticular, localizada en el tallo cerebral inflencie la corteza cerebral a través de un Sistema Reticular



ESQUEMA QUE MUESTRA LA PARTICIPACIÓN DE LAS DIVERSAS ESTRUCTURAS PARA LA GENERACIÓN DE LAS ONDAS PONTO-GENICULO-OCCIPITAL (PGOs). LA ESTRUCTURA GENERADORA DE ESTAS ONDAS ES EL ÁREA X, LA CUAL ESTÁ MODULADA DE FORMA INHIBITORIA POR EL LOCUS COERELEUS (LC) Y EL NÚCLEO DEL RAPHE DORSAL (NRD) MIENTRAS QUE EL CAMPO TEGMENTAL GIGANTOCELULAR (FTG) LA ESTIMULA. EL ÁREA ENVÍA PROYECCIONES HACIA LA (X OCCIPITAL A TRAVÉS DEL CUERPO GENICULADO LATERAL (LGB) DEL TÁLAMO (T)

Activador Ascendente (SRAA), el cuál induce la vigilia. Posteriormente para que se presente el sueño tiene que disminuir la actividad de la formación reticular.

También se ha observado, que estimulaciones eléctricas a frecuencias altas y bajas del hipotálamo anterior de gatos produce sincronización del EEG (Sterman y Clemente, 1962). Estos resultados son confirmados poco después por los trabajos realizados por Hernández-Peón y cols. (1963), en los cuáles realizan estimulaciones eléctricas y/o farmacológicas del cerebro anterior basal o área preóptica (AP). En estos estudios se demostró que la aplicación directa de microcristales de Acetilcolina (Ach) en esta zona aumenta la somnolencia o el sueño, mientras que las lesiones del AP o la administración de microcristales de atropina, induce insomnio y suprime el efecto inductor de sueño de la Ach (Velluti y Hernández-Peón, 1963). Con base en estos resultados, Hernández-Peón sugirió la existencia de una vía hipnógena colinérgica localizada dentro del cerebro anterior medial, la cuál está integrada por dos componentes: el primero es un componente descendente que se origina dentro del sistema límbico y se une a nivel pontino con un segundo componente ascendente, originado desde la sustancia gris de la médula espinal. A su vez, el sistema de vigilia tiene correspondencia con el SRAA. Adicionalmente, los trabajos de Shute y Lewis, (1967); sugirieron que el SRAA es de naturaleza colinérgica.

Por otra parte, los trabajos de Jouvet, (1969); demuestran que al lesionar la mayor parte de el Sistema del Rafe del gato

(80-90% aproximadamente) se produce insomnio conductual y electroencefalográfico total durante los primeros tres a cuatro días post-lesión, en los días siguientes se incrementa el SOL, pero no excede el 10% del tiempo total de registro. Lesiones menores al 80% provocaron que el animal pasara directamente de la vigilia a sueño MOR. Con base en estos hallazgos sugirió, la existencia de una fuerte correlación entre el sistema del Rafe y el SOL. Asimismo, demostró que la lesión induce una importante disminución de la Serotonina (5-HT) cerebral. Estas evidencias postularon la participación del sistema del Rafe y de la 5-HT en la modulación del SOL. Adicionalmente, demostraron que lesiones electrolíticas ventrales al Locus Coeruleus (LC) a nivel del núcleo reticularis pontis caudalis suprimen el sueño MOR. Asimismo, mediante estudios de inmunocitoquímica, se ha demostrado que esta estructura contiene considerables cantidades de Noradrenalina (NA) por lo que Jouvet relaciono al LC y a la NA para la generación de sueño MOR.

Con esta breve descripción de los sustratos neuroanatómicos del sueño, enfatizamos la importancia de las diversas estructuras cerebrales para la generación y mantenimiento del ciclo sueño vigilia. Evidentemente, también abrió la posibilidad de estudiar los factores humorales que participan en la modulación del sueño.

TEORIA MONOAMINERGICA DEL SUEÑO.

El sueño, a pesar de ser un estado frecuentemente visitado, ha representado uno de los procesos más complejos de entender, por lo que han surgido diversas teorías para tratar de explicar los mecanismos que lo controlan. Una de estas tesis, dentro del

aspecto Neuroquímico, es la teoría monoaminérgica del sueño, propuesta por Jouvet en la década de los 60", que describe la relación de las monoaminas con el control del ciclo sueño vigilia.

Estudios iniciales, realizados por Koella y cols, en 1968 demuestran que la aplicación directa de pedazos pequeños de papel filtro mojados con Serotonina (5-HT) a dosis de 10ug/ml en el área postrema de gatos cerebelectomizados, induce hipersincronía de el EEG.

Asimismo, Jouvet en 1969, administró 5-Hidroxitriptófano (5-HTP) un precursor de la 5-HT, en dosis de 30-50 mg/kg i.p. en gatos, e incrementó el sueño de ondas lentas, suprimiendo el sueño paradójico. Adicionalmente, la administración de PCPA en la rata a dosis de 400 mg/kg i.p., disminuye selectivamente la concentración de 5-HT disponible, a través de la inhibición directa de la enzima hidroxilasa del triptofano (Koe y Weissman, 1963), la cuál transforma al triptófano en 5-HTP (Pujol y cols, 1970). Después del tratamiento con la PCPA, hay una marcada reducción del SOL y SP, durante un periodo de 48-52 hrs se instala un insomnio casi completo, acompañado de la continua descarga de ondas PGOs durante todo el tiempo. Aún más, el insomnio es reducido con una sola administración de 5-HTP, el inmediato precursor de la serotonina, en dosis de 2-5 mg/kg, i.p. ó i.v. El compuesto restauró ambos estados de sueño a un patrón normal, durante un tiempo aproximado de 6-10 hrs, después del cuál continúa el insomnio. De forma similar, gatos pretratados con reserpina (0.5 mg/kg i. p.), fármaco que disminuye la

concentración de NE y 5-HT, provoca insomnio durante varias horas. Dicho estado es revertido por la administración de 5-HT. Por otra parte, Dahlstrom y Fuxe, (1964); demostraron que la mayor cantidad de serotonina cerebral se concentra en el sistema de núcleos llamados del Rafé. Mediante técnicas de lesión con las que se destruyó de un 80 a 90% de dicho sistema se produjo insomnio continuo en el gato durante los primeros 3-4 días. En los días siguientes aparece SOL sin exceder el 10% del tiempo total de registro. Además, lesiones rostrales de este sistema generan conductas tales como la aparición de SP directamente después de la vigilia, semejante a estados de narcolepsia. Lesiones mayores al 15% del sistema del Raphe provocan insomnio. Como hemos señalado, el bloqueo farmacológico de la síntesis de 5-HT también induce insomnio. Ambas evidencias sugieren el sistema del Rafé usando como neurotransmisor a la 5-HT modulan el SOL en el gato.

Sin embargo, el bloqueo farmacológico de la NA no produce los mismos efectos. Se ha demostrado, que la administración de pargilina a ratas y gatos, fármaco que induce la inhibición de la enzima monoamino oxidasa responsable de la degradación de catecolaminas, incrementa los niveles de NA pero suprime de manera selectiva el SP, efecto reproducido por la alfa-metil-paratiroxina y el disulfiram, fármacos que bloquean la síntesis de NA. Adicionalmente, se ha demostrado que la principal disminución de tal enzima es en el núcleo LC. Estos hallazgos, son apoyados por estudios de inmunocitoquímica realizados por Dahlstrom y Fuxe, (1964), en los cuales encuentran una gran concentración de NA en el tallo cerebral, principalmente en el

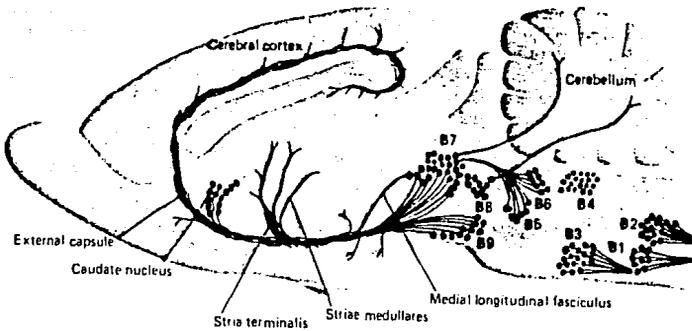
LC.

Los estudios de lesión muestran, que la destrucción bilateral del área ventral del LC, a nivel del núcleo reticularis pontis caudalis, suprime de manera selectiva el sueño paradójico, aunque lesiones hechas en otras regiones de este mismo núcleo no afectan el ciclo sueño vigilia.

Asimismo, Pujol (1968), describe que durante el rebote de SP posterior a la privación de sueño en la rata, se produce un aumento en la concentración de NA cerebral.

Por otro lado, se ha mostrado que microcristales de NE y epinefrina administrados en el hipotálamo, inducen un estado de vigilia con desincronización cortical (Hernández-Peón, 1963), sugiriendo que la NE interviene en los procesos de la vigilia. Adicionalmente, Jones (1979), propone que neuronas noradrérgicas de la Formación Reticular Mesencefálica (FRM) y Pontina (FRP), participan regulando la vigilia y el sueño de movimientos oculares rápidos, respectivamente.

Con base en estas evidencias, Jouvet (1972), propone que estos dos sistemas de neurotransmisores son los responsables de la ejecución y modulación de sueño. Por un lado, el sistema del Rafe y la 5-HT son responsables de la generación de la fase de SOL, y por el otro la NA y el LC generan el SP. Asimismo, propone una interacción recíproca entre ambos sistemas, mostrando que la destrucción de la porción rostral del Rafe produce insomnio, seguido de incremento en la actividad de neuronas ascendentes, mientras que al destruir neuronas posteriores producen incremento en la actividad rostral del sistema del Rafe e



REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA DISTRIBUCIÓN DE LAS VÍAS QUE CONTIENEN 5-HT EN EL CEREBRO DE LA RATA. COMO PUEDE OBSERVARSE, LA MAYOR CONCENTRACIÓN DE ESTE NEUROTRANSMISOR SE LOCALIZA EN NÚCLEOS ESPECÍFICOS DEL TALLO CEREBRAL (EL COMPLEJO DEL RAFÉ). DICHO NÚCLEO ENVÍA PROYECCIONES HACIA EL CEREBRO ANTERIOR Y CEREBELO.



ESQUEMA QUE MUESTRA LAS CONECCIONES ADRENERGICAS ESTABLECIDAS POR EL LOCUS COERULEUS (LC) EN EL CEREBRO DE LA RATA. DICHO NÚCLEO ENVÍA PROYECCIONES IMPORTANTES HACIA NÚCLEOS DEL TALLO CEREBRAL, CEREBELO Y CEREBRO ANTERIOR.

hipersomnias. Considera también, que el papel de la 5-HT no es únicamente el de modular el sueño lento sino que además el de disparar el SP, mientras que neuronas noradrenérgicas mantienen el SP y la vigilia.

Actualmente, se sugiere, que el sueño no depende de manera exclusiva de estos neurotransmisores, de acuerdo a las siguientes observaciones:

Se ha mostrado, que el efecto inductor de insomnio producido por la PCPA desaparece en el tratamiento continuo, en un tiempo aproximado de 72-120 hrs. La cantidad de sueño de los animales tratados aumenta casi a valores normales mientras que los niveles de 5-HT permanecen disminuidos (Henriksen y cols; 1971). De forma similar, se ha descrito que el contenido de 5-HT en la glándula pineal de la rata varía de forma circádica, observándose una concentración alta al final del periodo de oscuridad o de actividad y disminuyendo gradualmente durante el periodo de luz o de reposo. Con estas evidencias, se sugiere, que la 5-HT no tiene un papel disparador del SOL (Agren y cols, 1986).

Además, registros de actividad unitaria realizados en neuronas serotoninérgicas de el Núcleo del Rafe Dorsalis y Magnus han mostrado que disminuye gradualmente de la vigilia (100%), al SOL (50%) y al SP (10%) (McGinty y cols, 1973).

Debido a las críticas que no pueden ser contestadas por esta teoría, actualmente se ha modificado, sugiriendo la participación de la 5-HT como una neurohormona que facilita la acumulación de factores inductores de sueño durante la vigilia (Sallanon y cols, 1985).

A su vez, el estudio del papel de la NA en el ciclo sueño-

vigilia no ha podido corroborarse, ya que trabajos hechos con fármacos inhibidores de la síntesis de NA no han demostrado que el sueño MOR se abola (Stern y cols, 1972). Sin embargo, las investigaciones al respecto han sido extendidas por Hilakivi y cols, mediante la utilización de diversos fármacos que actúan directamente sobre los receptores alfa y beta adrenérgicos. De esta forma, Putkonen y cols, (1977), demuestran que fármacos tales como la Clonidina y Xilazina, agonistas de los receptores alfa-2 presinápticos, que inhiben la liberación de NE, suprimen el SOL II y el SP y en consecuencia aumentan la vigilia. Por el contrario, al utilizar antagonistas alfa 1 y 2 - adrenérgicos, tales como la Fentolamina, Yohimbina, Tolozonina, Timoxamina y Fenoxibenzamima, se observa que sólo la Fentolamina incrementa el SP. Asimismo, se ha visto que antagonistas beta-adrenérgicos, como el propanolol y el pindolol, disminuyen significativamente el SOL II y el SP en el gato.

Estos trabajos sugieren que la supresión de sueño MOR es consecuencia de la disminución de NE disponible y que a la inversa, un incremento en su concentración estimula la aparición de sueño MOR. Sin embargo, Gaillard y cols, (1983); reportan que la clonidina no modifica el sueño MOR en humanos, a dosis de 0.4 ug/kg, pero origina un rebote de sueño MOR, después de la segunda noche posterior a su administración.

A partir de estos estudios, es apoyada la hipótesis de que la NE es un factor importante para la regulación del SOL II y de SP, pero aún falta esclarecer de manera más específica su participación .

TEORIA COLINERGICA

Otro Neurotransmisor importante, como modulador del ciclo sueño-vigilia, es la Acetilcolina (Ach), la cual se ha propuesto como inductor y mediador del sueño MOR. Los trabajos realizados por Hernández-Peón y col. (1963), aportaron evidencia experimental que involucró a la Ach en la regulación del sueño. En sus estudios, aplicó microcristales de Ach en algunas regiones del Sistema límbico tales como el cerebro basal anterior y observó que a los pocos minutos después de su administración, aparecía el SOL y posteriormente el sueño MOR. Con base en sus resultados, Hernández-Peón propuso dos sistemas antagonistas colinérgicos, que operan durante el ciclo sueño-vigilia. Por una parte el sistema de sueño, integrado por dos componentes; el primero es un componente descendente originado en el sistema límbico. Se ha mostrado, (Velluti y Hernández-Peón, 1963) que inyecciones de Ach dentro de este componente generan sueño, mientras que lesiones o inyecciones de Atropina (Antagonista colinérgico), suprime el efecto inductor de sueño. Este componente descendente, se une a nivel pontino con un componente ascendente, originado en la sustancia gris de la médula espinal. Hernández-Peón, (1967) propone que dicho sistema de sueño es encendido al recibir el estímulo hipnógeno primario, después los estímulos convergen en una vía final común, causando una progresiva inhibición ascendente de neuronas mesencéfalicas, mientras que las neuronas talámicas permanecen desinhibidas y por tanto organizan la actividad talámo-cortical, registrándola como

husos de sueño durante el SOL. Eventualmente la onda de inhibición continúa ascendiendo y alcanza las neuronas reclutantes del talámo. La inhibición de estas estructuras, libera la actividad de la corteza generando el SP.

Poco después, los trabajos realizados por Rojas-Ramírez y Drucker-Colin, (1973) en los cuales aplicaron microcristales de Ach, a varios niveles de la médula espinal, apoyan la existencia, de un componente ascendente del sueño que sale de los cuernos dorsales de la sustancia gris de la médula espinal, preferentemente a nivel cervical y que estas influencias de posible naturaleza colinérgica llegan hasta el tallo cerebral y cerebro anterior generando SOL y SP.

Por su parte, el sistema de vigilia, presenta un componente ascendente colinérgico que sale del tegmento mesencéfalico. Adicionalmente, se ha visto que la estimulación local colinérgica de esta área produce despertar (Morgane y cols, 1969). Sin embargo, ambos sistemas colinoceptivos de sueño y vigilia, están topográficamente mezclados en el cerebro anterior medial y en el hipotálamo lateral.

Por último, Hernández-Peón, (1963), además de considerar que el sueño es de naturaleza colinérgica; sugiere que es un evento unitario, donde el sueño de ondas lentas y el MOR son solamente diferentes manifestaciones de los mismos procesos básicos, los cuáles, no deben de ser considerados estadios separados.

Evidencias posteriores, realizadas por Jasper y Tessier, (1971), apoyan la idea del involucramiento de la Ach durante el sueño. Ellos demostraron, que durante el sueño MOR ocurre la

mayor liberación de ACh cortical, comparada con la vigilia y el SOL. Determinaron que durante la fase MOR se liberan 2.2 ngr/min/cm, mientras que en el SOL 1.2 ngr/min/cm y durante la vigilia 2.7 ngr/min/cm. Sugiriendo, que la ACh liberada es responsable de la desincronización cortical.

Posteriormente, Gadea-Ciria (1973), cuantificó la liberación de ACh en el Cuerpo estriado durante el ciclo sueño-vigilia del gato en libre movimiento. Encontró que dicha liberación aumenta durante el SP, comparado con el SOL y la vigilia.

Por otra parte, utilizando inhibidores de la acetilcolinesterasa (ACT), tal como la Eserina, encuentran que la latencia para sueño MOR disminuye y aumenta su frecuencia, en el ciclo sueño vigilia del gato (Jouvet, 1962). Resultados similares son observados cuando se administra neostigmina, otro inhibidor de la ACT, en dosis de 20 mg/kg, observando un incremento en la frecuencia y disminución en la latencia de sueño MOR. Paralelamente, este efecto es bloqueado después de la administración de la atropina, (15 mg/kg) observando un aumento en la latencia y reducción en la frecuencia de sueño MOR (Baghdoyan y cols, 1985).

Asimismo, el carbacol, (agonista colinérgico) aplicado en la formación reticular pontina, produce un estado de sueño desincronizado ; pero cuando es administrado en el cerebro medio y en la formación reticular bulbar, no favorece la aparición de sueño MOR (Baghdoyan y cols, 1985). Asimismo, Gnadt y Pegram, (1986) demuestran que el carbacol administrado en la formación reticular pontina, produce un incremento en la cantidad de sueño MOR de manera dosis-dependiente. Además, demuestran que este

efecto es bloqueado por la administración de atropina. Estas evidencias, apoyan la idea de la participación de la Ach en la generación y mantenimiento de sueño MOR.

En 1977, Hobson describió el modelo llamado de interacción recíproca. Este modelo relaciona la oscilación de dos poblaciones neuronales. Por un lado, las células localizadas en la formación reticular pontina responsables de la generación de sueño MOR que se sugieren sean colinérgicas y/o colinocéptivas. Por otro lado, las neuronas del NLC y NRD de naturaleza aminérgica, las cuáles, decrecen su actividad para permitir la activación de las células pontinas.

Este modelo sugiere la participación de varios grupos neuronales del tallo cerebral, así como diversos neurotransmisores que son mediadores en estas áreas, para la generación de sueño MOR. Sin embargo existen evidencias, que no apoyan esta hipótesis. Drucker-Colin y cols, (1983) demuestran que lesiones con ácido kaínico del campo tegmental gigantocelular (FTG), no afectan los niveles basales de sueño MOR del gato. Sugiriendo que dicha estructura participa únicamente en la facilitación de sueño MOR, pero no en su generación.

Por otra parte, los estudios de la actividad unitaria de las neuronas de esta área, demuestran un aumento en la frecuencia de descarga durante el SP y la vigilia activa. Además, se ha demostrado que dichas neuronas no son de naturaleza colinérgica, ya que no presentan inmunoreactividad a la colina acetiltransferasa. Ello sugiere, que las células excitadas que decargan durante el sueño MOR, son colinoceptivas, pero no son

colinérgicas, como tradicionalmente se había pensado (Shiromani y cols, 1987). Al mismo tiempo, Baghdoyan y cols, (1984); han descrito que existe un gradiente de respuesta dentro del tegmento pontino, a la aplicación de colinomiméticos, para la generación óptima del sueño desincronizado. De este trabajo infieren, que la evocación del SP es facilitada en el tegmento pontino anterodorsal, mientras que puntos distantes a esta región, no lo facilitan e incluso lo reducen.

Con todo, la Ach es el neurotransmisor cuya participación en el control del sueño MOR parece clara. Sin embargo, parece que no es la única sustancia que participa. Aparentemente, existen compuestos de naturaleza proteica que no solo juegan algún papel en la modulación del sueño MOR sino también del sueño lento. Se cree que está no es solo su principal, sino única función, por lo que se han denominado " factores inductores de sueño".

FACTORES INDUCTORES DE SUEÑO.

La teoría de los factores inductores de sueño, propuesta, por Pierón a principios de siglo; estuvo basada en los siguientes experimentos. El privó de sueño a perros durante varios días y después les extrajo Líquido Cefaloraquídeo (LCR) de la cisterna magna y lo administró a perros que habían dormido ad libitum; observó que la sola aplicación del LCR indujo un estado de somnolencia, en los perros normales. Con base en estos experimentos sugirió la existencia de una sustancia inductora de sueño o hipnotoxina que se acumula durante la vigilia prolongada y es la responsable de la aparición de sueño. Sin embargo, estos

experimentos permanecieron olvidados por más de 20 años. Es hasta 1939, cuando Schnedorf e Ivy, los reproducen. Sin embargo, observan que al administrar el LCR de perros privados de sueño a 24 perros, solo 9 de ellos reducen su actividad locomotora después de la administración. Por lo que la hipótesis de la hipnotoxina no se corroboró. Es hasta la década de los 60's cuando se retoma la teoría y diversos investigadores intentan demostrar la existencia de la hipnotoxina. En la siguiente sección reseñaremos los trabajos independientes de varios autores, que han demostrado la existencia de varias sustancias hipnógenicas.

FACTOR INDUCTOR DE SUEÑO DELTA O DSIP

Es hacia principios de la década de los 60's, cuando los trabajos de Monnier y cols, (1964), retoman la idea de la hipnotoxina. Ellos llevan a cabo una preparación en conejos en los cuales inducen circulación cruzada entre las venas yugulares de dos conejos. Uno (el donador) que adicionalmente fué implantado con un electrodo de estimulación en los núcleos intralaminares del talámo, con el fin de inducir sueño; el otro (receptor) se durmió minutos después que el donador fué estimulado. Los resultados de estos experimentos sugieren que una sustancia endógena se podía encontrar en el plasma de los conejos dormidos induciendo el sueño en los animales receptores.

Posteriormente, Schoenenberger y cols, (1977), purificó del material hipnógeno, un compuesto con un peso molecular de 860 Kda, y al que se nombro Factor Inductor de Sueño Delta o DSIP (siglas en inglés), debido a que actúa induciendo esta fase del

sueño. Asimismo, se determinó que la dosis efectiva para la inducción de sueño en conejos es de 3.3×10^{-6} mol/kg/0.05 ml/25 min.

Sin embargo, la idea, de un factor de sueño capaz de acumularse en el torrente circulatorio y generar sueño está todavía en discusión pues hay trabajos que han encontrado resultados contrarios. Experimentos realizados por Nava y cols. (1973), demuestran que al transplantar la cabeza aislada de un perro, al cuello de un perro acceptor completo y registrar EEG de ambas cabezas, la actividad cerebral es diferente. Por otra parte, estudios hechos en gemelos craneopagus no han apoyado la hipótesis (Brailowsky y cols, 1988).

FACTOR S

Independientemente, Pappenheimer y cols. (1967), hicieron estudios sobre la hipnotoxina. Utilizaron cabras implantadas con una cánula en la cisterna magna, a las cuáles privaron de sueño mediante el uso de un dispositivo automático, basado en choques eléctricos y alarmas acústicas que mantuvieron despiertos a los animales durante 24-76 hrs. Al final de la privación, se les extrajo LCR que fué administrado en el ventrículo lateral de ratas. Observaron una correlación en la disminución de la actividad locomotora y sincronización de la actividad cortical de la rata. Lo anterior, sugiere la existencia de un factor hipnogénico en el LCR de cabras privadas de sueño, capaz de producir sueño en otras especies. En estudios posteriores, Pappenheimer aisla y purifica un componente del LCR de cabras

privadas de sueño y determina que tiene un peso molecular aproximado de 500 DA, al que denomina Factor S. Asimismo, al incubar este factor con diferentes enzimas se destruye su actividad biológica, concluyendo que este componente es de naturaleza proteínica, y que además puede localizarse en el cerebro, particularmente en el tallo cerebral. Además, utilizando cromatografía de partición se llega a conocer que su concentración en todo el tejido cerebral, es del orden de 0.3 nmoles/g; concentración que aumenta en correlación al tiempo de privación (Krueger y cols, 1982).

En estudios posteriores se ha encontrado en conejos, que la dosis de 0.1 ml del factor S, aumenta la cantidad de SOL y la amplitud del EEG, aproximadamente en un 15-20%, durante 4-5 hrs. Estos resultados sugieren que el sueño y la vigilia son el resultado de un balance entre la acumulación y la utilización de este péptido. El efecto, sin embargo, no se ha podido reproducir en conejos (Ver Drucker-Colin, 1981).

No obstante, Krueger y cols, (1984); han continuado la investigación del factor S, reportando recientemente, que este factor es de la familia de los Péptidos Muramil (MPs); lo han aislado de la orina humana y su estructura es similar a los peptidoglicanos de la pared celular bacteriana. También han visto, que el muramil dipéptido (MDP), de dicha familia tiene propiedades inductoras de sueño. Al administrar una picomola del MDP en el ventrículo lateral de conejo, se produce un incremento prolongado en el SOL de aproximadamente un 40-50% durante 6 hrs de registro. También al administrar intraventricularmente (i.v.t) los MPs en conejos, observan un incremento en la cantidad de

SOL, lo que parece indicar que las bacterias alojadas en el intestino humano en condiciones normales, son capaces de producir sustancias con propiedades hipnógenicas, dentro del contexto fisiológico del sueño, podrían representar uno de los mecanismos disparadores y/o facilitadores de este evento. Por otra parte, se ha demostrado, que el MDP y los MPs, modifican la respuesta inmune del hospedero, facilitando la síntesis y liberación de compuestos tales como la Interleucina-1 y el interferón alfa-2. En trabajos posteriores Krueger y cols, (1986), describen que estos péptidos aumentan el SOL. No obstante, esta teoría es difícil de aceptar por varias limitaciones, por ejemplo, sugiere que el sueño depende de un aporte diario de MPs por la flora intestinal, sin embargo, los neonatos y prematuros que pasan la mayor parte del tiempo durmiendo tienen disminuida dicha flora, la administración de fármacos tales como la penicilina que destruyen la pared bacteriana y aumentan la disponibilidad de MPs, no modifican el ciclo sueño-vigilia. Finalmente, todas estas sustancias MPs, interleucina-1 e interferón alfa-2 son pirógenas, por lo que el aumento del sueño puede ser consecuencia de el aumento de la temperatura corporal.

SUSTANCIA PROMOTORA DE SUEÑO

Los trabajos de Drucker-Colin y cols, (1970), sobre los factores inductores de sueño dan otra perspectiva a esta teoría. Ellos obtienen perfusados de la formación reticular mesencéflica de gatos privados selectivamente de sueño MOR por el método del

florero invertido, mediante la canúla de infusión perfusión o " push pull". Al transferir estos perfusados a la zona homóloga de gatos despiertos, inducen sueño. Por esta razón se pensó, que estos perfusados podrían contener algún material hipnógeno. En base a estas evidencias, Nagasaki y cols, (1974), continúan las investigaciones al respecto. Estos investigadores separan tallos cerebrales de ratas privadas de sueño durante 24 hrs, después al homogeneizarlos, dializarlos y liofilizarlos, obtienen un extracto que al inyectarlo i.p. a ratas normales promueve la aparición de sueño, aumentando la cantidad de SOL y de SP, por lo que a este extracto le nombraron sustancia promotora de sueño (SPS). Posteriormente, Inoue y cols, (1984), reportan que la SPS purificada presenta al menos 4 fracciones activas denominados: SPS-A-1, SPS-A-2, SPS-B, y SPS-X, aunque los últimos tres componentes no han sido identificados, se ha demostrado que la SPS-A-1 es la Uridina. Honda y cols, (1984), demuestran que la Uridina tiene efectos en el sueño nocturno de ratas a dosis de 10 pmol i.v.c., incrementando de manera significativa tanto el SOL como el SP, efecto reproducido poco después por Kimura y cols, (1987). Sin embargo, Inoue y cols, (1984), demuestran que la Uridina no tiene ningún efecto cuando es administrada durante el periodo diurno. A partir de estos resultados se concluye que la Uridina presenta un efecto inductor de sueño selectivo para determinados periodos, en los cuales los requerimientos de sueño no han sido cubiertos por completo, pero que es incapaz de producir efecto alguno cuando las condiciones han sido satisfechas, por lo que su participación durante el ciclo sueño vigilia se restringe únicamente a dichos periodos, actuando por

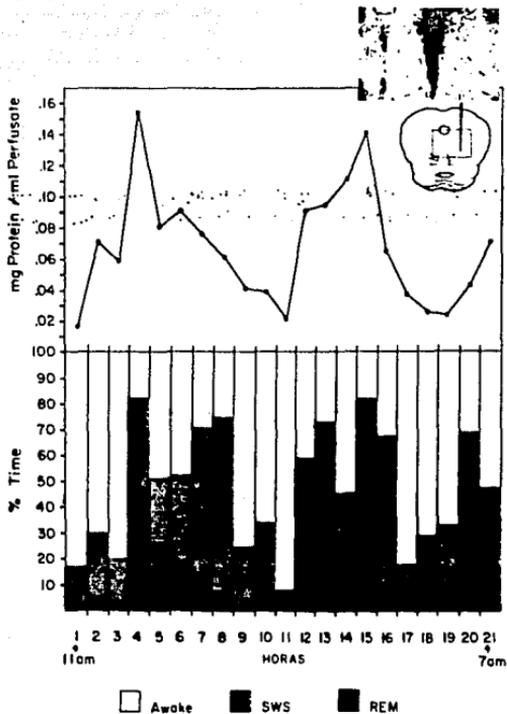
tanto sólo como un modulador.

PROTEINAS Y SUEÑO

Los hallazgos realizados por Drucker-Colin y cols, sugieren un nuevo enfoque a la teoría de los factores inductores. En 1975, Drucker-Colin y cols, reportan que durante el ciclo sueño-vigilia del gato existen cambios en los niveles de proteínas en la formación reticular mesencefálica. Ellos determinaron que el pico máximo de proteínas es dado durante el sueño MOR. Con base a estos resultados, sugieren que las proteínas juegan un papel regulador durante esta fase. Poco después, Spanis y col, en 1976, mediante estudios bioquímicos, caracterizan los perfusados de la FRM durante el ciclo sueño-vigilia del gato. Sus resultados muestran, que los perfusados obtenidos durante el sueño MOR, contienen 2 proteínas con un peso molecular de 73,000 y 45,000, exclusivos de esta fase. Además, demuestran que lesiones bilaterales en el AP, inducen una disminución de sueño, en particular de sueño MOR, y abolen la liberación de proteínas. Estas evidencias, apoyan más la noción de que durante el sueño MOR ocurre un aumento en la síntesis de proteínas. Sin embargo, este hecho es meramente comparativo por lo que se decidió probar su posible participación de manera más específica, a través de la utilización de técnicas inmunológicas. Mediante estas técnicas, se obtuvieron anticuerpos específicos para las proteínas de la FRM los que fueron inyectados dentro de la zona homóloga a gatos normales. Los resultados mostraron que los anticuerpos reducen de manera selectiva la cantidad de sueño MOR. Estos trabajos

sugirieron que en efecto las proteínas modulan el sueño MOR.

Paralelamente, Takahashi y cols, (1968) demostraron que durante el sueño Delta en el humano, ocurre un aumento en la liberación de la hormona de crecimiento (HC) y dado que su liberación ocurre durante la primera parte de la noche, se propuso la posibilidad de que esta hormona pudiera jugar un papel facilitador de la síntesis de proteínas y en consecuencia la aparición de sueño MOR, debido a que esta fase aparece preferentemente durante la segunda parte de la noche. Posteriormente, Drucker-Colin y cols, (1972) demuestran que la HC administrada a ratas produce una correlación positiva entre la dosis de HC y la cantidad de sueño MOR. Asimismo, demuestran que esta fase de sueño puede ser abolida por la administración exógena de inhibidores de la síntesis de proteínas, tal como el cloranfenicol (CAP), y que puede bloquear también el rebote de sueño MOR de gatos privados de sueño mediante técnicas instrumentales durante 72 hrs, apoyando la teoría de la participación de las proteínas en la modulación de sueño MOR. Además, se probó si la inhibición del rebote del sueño MOR era dada por la disminución en la síntesis de proteínas o si había una participación de neurotransmisores tales como las monoaminas: dopamina o NA. Para demostrar lo anterior, Drucker-Colin y Benitez, (1977) administraron Anfetamina (fármaco que facilita la liberación de Dopamina y en parte de NA), 10 mg/kg i.p. durante 15 días consecutivos lo que mantuvo insomnes a los animales, después que se suspendió el fármaco se dividieron a las 12 ratas tratadas, en 2 grupos: a uno de ellos se les administró solución salina y al otro 100 mg/kg de CAP i.p. Los resultados mostraron



En esta figura se observa que los mayores niveles de proteínas extracelulares de la Formación Reticular - Mesencefálica están asociados a la fase de sueño MOR en el gato. En blanco se representa la cantidad de vigilia, en gris el sueño de ondas lentas y en negro el sueño MOR.

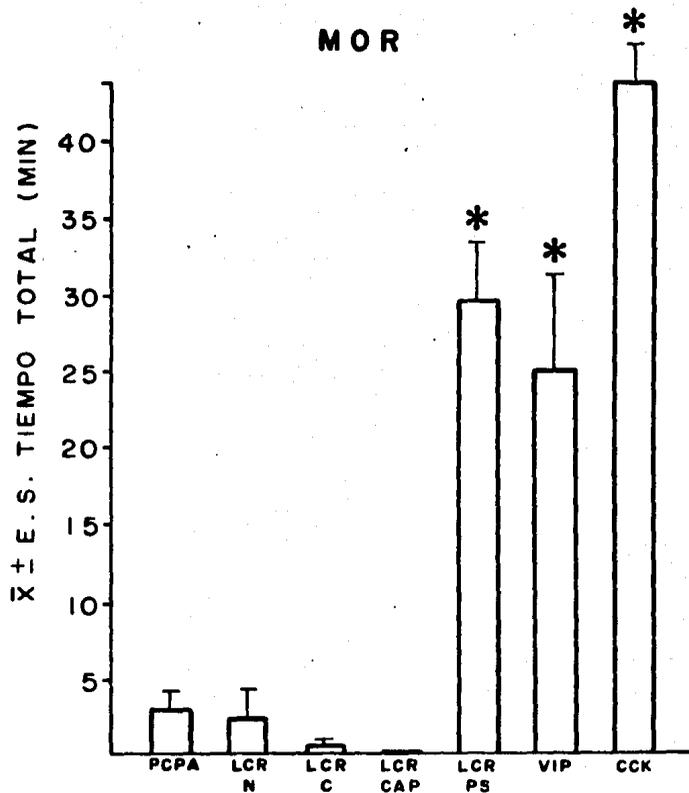
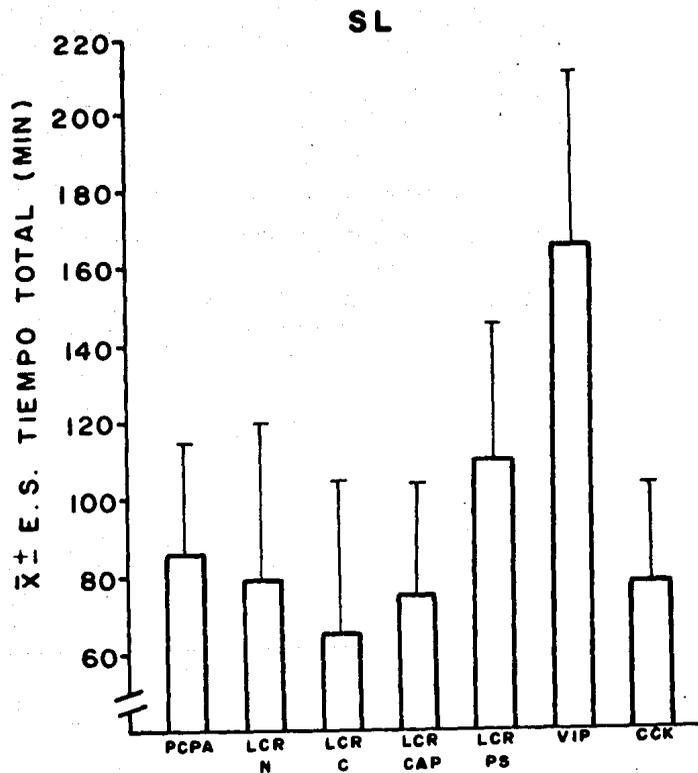
que al suspender la anfetamina, las ratas que recibieron solución salina, tuvieron rebote de SOL y de MOR, en tanto que el grupo que recibió CAP, únicamente tuvo rebote de SOL. Estas evidencias, sugieren que las monoaminas, tal como la Dopamina y la NE, participaban en la ejecución preferencial de SOL, mientras que las proteínas eran responsables de generar el sueño MOR. Se han acumulado más evidencias, acerca del papel modulador de las proteínas sobre el sueño MOR, se ha acumulado (Ver Drucker-Colin, 1981; Inoué, Schneider-Helmert, 1988). sin embargo, los péptidos de bajo peso molecular han sido extensamente estudiados y sigue postulándose su participación en el control de esta fase.

NEUROPEPTIDOS Y SUEÑO MOR

Recientemente, se han propuesto a los neuropéptidos como responsables de la modulación de sueño MOR. Estudios actuales, realizados por Riou y cols. (1982) demuestran que después de la administración de la Arginina Vasotocina, Angiotensina II, Renina, Sustancia P, Colecistocinina (CCK-8) y del Polipéptido Vasoactivo Intestinal (VIP), solamente este último incrementa la cantidad de sueño MOR en ratas pretratadas con PCPA. Asimismo, Drucker-Colín y cols. (1984), demuestran que el VIP aumenta el SP en gatos normales. Sin embargo, existen otros trabajos que demuestran la participación de algunos otros de estos neuropéptidos en la regulación del sueño. Obal y cols. (1986) reportan que la CCK-8 a dosis de 45 nmol/kg i.p. reduce la vigilia e incrementa el SOL. También, Próspero-García y cols. (1987), demuestran que la administración de CCK-8 100 ng i.v.t reduce el insomnio de gatos pretratados con PCPA, incrementando de manera significativa la duración de sueño MOR. A partir de estas evidencias, se sugiere que el VIP y la CCK-8 participan en la regulación de sueño MOR y que su efecto es observado de forma más clara bajo condiciones extremas, como es el caso de insomnio, cuando los requerimientos del sueño no han sido satisfechos.

Por otra parte, Sallanon y cols. (1982) demuestran que el LCR de gatos privados de sueño por el método del tanque, es capaz de bloquear el insomnio producido por la PCPA en gatos receptores. Asimismo, Adrien y Dugovic. (1984) reportan que el LCR de ratas privadas de sueño, restaura el sueño MOR a ratas receptoras pretratadas con Propranolol. Sobre esta línea de

trabajo, Próspero-García y cols. (1986) determinan que el LCR de gatos privados de sueño induce sueño MOR en gatos pretratados con PCPA. Además, el LCR es incapaz de producir dicho efecto si es previamente calentado a 94 C durante 15 min. Sugiriendo, la presencia de material hipnógeno contenido en el LCR y cuya naturaleza probablemente es proteínica. En el mismo estudio, demuestran que el VIP a dosis de 200 ng/ 100 ul i.v.t. disminuye el insomnio producido por la PCPA, incrementando la cantidad de sueño MOR. Paralelamente, observan que en ambos casos el VIP y el LCR de gatos privados de sueño, incrementan la frecuencia pero no la duración de sueño MOR, lo que sugirió la posibilidad de que el LCR contenga un factor inductor de sueño parecido al VIP. Después probaron esta hipótesis. En 1988, Drucker-Colín y cols; reportan que al incubar el LCR de gatos privados de sueño con anticuerpos anti-VIP, bloquean el efecto hipnógeno del LCR del gato privado de sueño. Con estas evidencias sugieren, que el VIP o una sustancia inmunológicamente parecida a este, es la responsable del efecto inductor de sueño MOR del LCR PS. Debido a que incrementa la frecuencia pero no la duración de esta fase, se propuso que actuaría como un disparador de sueño MOR. En cuanto a los mecanismos responsables de mantener la duración podrían estar dados por una modulación colinérgica, ya que como hemos señalado dentro de la teoría colinérgica de sueño, cuando son administradas sustancias facilitadoras de este neurotransmisor dentro del área pontina, incrementan de forma notable la duración de sueño MOR en gatos. Sin embargo, pese a las propiedades inductoras de sueño del LCR, aún no se han identificado los



Efecto del LCR de gatos privados de sueño (LCR PS) VIP y CCK sobre el insomnio producido por la PCPA en el gato. En esta figura se observa que el LCR PS, 200 ng de VIP y 100 ng de CCK son capaces de incrementar el sueño MOR - de manera significativa, mientras que el LCR normal (LCR N), LCR calentado (LCR C) y LCR de gatos pretratados con CAP (LCR CAP) no tienen este efecto. Se puede observar también que las diferentes sustancias no inducen sueño lento.

factores responsables de este evento.

Existen trabajos que evidencian la participación del VIP como facilitador de sueño MOR. Riou y cols, (1982), demuestran que el VIP reduce el insomnio en ratas pretratadas con PCPA, incrementando la cantidad de sueño MOR. Asimismo, Drucker-Colin y cols, (1984) observan un incremento de sueño MOR en gatos normales. Además, se ha visto que las propiedades inductoras de sueño del VIP, no dependen de una alteración en la temperatura cerebral (Obál y cols, 1986). También han observado un aumento en la amplitud de los husos de sueño del EEG, después de la administración i.c.v. de VIP a dosis de 3.3 / 6.6 pmol/ min durante una hora (Ver Inoué y Schneider-Helmert, 1988).

Se ha demostrado, mediante estudios de inmunoreactividad y de unión específica que el VIP se localiza en diferentes regiones del Sistema Nervioso Central (SNC) de los mamíferos. En el SNC de ratas, el VIP se encuentra contenido en la corteza cerebral y en diferentes estructuras del cerebro anterior basal, el septum, estria medularis, amígdala, núcleo acumbens e hipotálamo; así como en el tallo cerebral. Por lo que probablemente alguna de estas estructuras, también relacionadas con el sueño sean las responsables en parte, de modular este estado. Sin embargo, hasta el momento no existen trabajos al respecto. Aunque se ha demostrado, que el VIP además de estar contenido en el cerebro de forma extensa, participa en el desempeño de diversas funciones. El VIP es un potente vasodilatador del cerebro (Rostene y cols, 1984). Estimula el rompimiento de glicógeno y por tanto incrementa la utilización de glucosa en rebanadas de corteza cerebral, así como la estimulación para la producción de AMP

ciclico (Schaad, 1987).

Por otra parte, se ha reportado que el VIP coexiste con diferentes neurotransmisores entre ellos la Ach. Ambos se han localizado en áreas discretas del cerebro y en ganglios periféricos (Ver Drucker-Colin, 1988). Asimismo, la participación del VIP y la Ach durante el sueño ha sido demostrada en parte por los trabajos realizados por Drucker -Colin y cols, (1988). En los que observan que al aplicar simultáneamente VIP en el 4 ventrículo y carbacol en el campo tegmental gigantocelular (FTG), de gatos pretratados con PCPA, induce una menor cantidad de sueño MOR que el que induce el VIP solo. También observaron que el carbacol es incapaz de resturar el insomnio producido por la PCPA. A partir de estos resultados, se concluye que la Ach antagoniza los efectos del VIP, cuando la disponibilidad de 5-HT es muy baja. Probablemente, este neuropéptido influya en la biodisponibilidad de la Ach y en la excitabilidad de las neuronas el tegmento pontino. Sin embargo, se desconocen los mecanismos por los cuáles actúa.

Por otra parte, se ha demostrado que el VIP también coexiste con NE en la corteza cerebral de ratas (Magisttreti y cols, 1984) y con 5-HT en el área supraquiasmática (Héry y cols, 1985). El VIP incrementa la liberación y síntesis de 5-HT en el área supraquiasmática, su acción resulta parcialmente de una inhibición en la recaptura de 5-HT. Asimismo, demuestran que el mecanismo de acción en el metabolismo de la 5-HT, mediado por el VIP, esta dado solo a través de los mecanismos de recaptura, y no por alguna actividad sobre los receptores presinápticos de la 5-

HT. Asimismo, Rostene y cols, (1984) demuestran que en rebanadas de hipocampo, el VIP incrementa el número de receptores 5-HT-1. Sin embargo, la mayoría de los resultados encontrados son in vitro lo que no necesariamente ocurre in vivo. Además, de que no existen reportes de la participación de este neurotransmisor con el VIP, durante el ciclo sueño-vigilia. Aunque, se ha demostrado que el VIP participa de manera importante en la regulación neuroendocrina, mediante la liberación de varias hormonas. Entre ellas, podemos mencionar a la Prolactina (PRL), la hormona de crecimiento (HC) y la Somatostatina. Debido a que el VIP interviene en procesos fisiológicos importantes, interaccionando con diversos neurotransmisores y hormonas, se ha sugerido que pudiera actuar como un neuromodulador o neurotransmisor. Aunque son escasas las evidencias, por lo que son necesarios más estudios para determinar su participación.

OBJETIVOS

En base a estas evidencias, concluimos que el VIP interviene en la regulación del ciclo sueño-vigilia, aumentando preferencialmente la cantidad de sueño MOR. También podemos suponer que los neurotransmisores como son la Ach, NE y 5-HT de manera directa o indirecta están afectando el ciclo sueño-vigilia. Debido a la estrecha relación que parece existir entre el VIP y los transmisores mencionados, es posible que el efecto inductor de sueño MOR del VIP pueda estar mediada por algunas de estas sustancias. El objetivo del presente trabajo es demostrar si el VIP ejerce su efecto a través de alguno de dichos sistemas.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron gatos de ambos sexos, que fueron mantenidos en condiciones de bioterio durante un periodo mínimo de 40 días. En este tiempo fueron tratados por el médico veterinario para su desparasitación intestinal y cutánea. Posteriormente, al tratamiento se colocaron y se dividieron por sexo en un cuarto común para gatos hembras o machos. Las condiciones del cuarto eran temperatura constante, comida (alimento concentrado para gato = gatina y carne de caballo) y agua ad libitum. Para realizar la cirugía estereotáxica los gatos fueron preparados con sulfato de atropina (0.04 mg/kg s.c. durante 15-20 min) e hidrocloreuro de xilacina (0.5 - 1.0 mg/kg i.m. durante 15 min). Posterior a la administración de los preanestésicos, se anestesió con pentobarbital sódico (25-30 mg/kg i.v. durante 30-45 min). Finalmente, se rasuró la cabeza del animal. En estas condiciones, el animal se sometió a la cirugía estereotáxica, se abrió la piel, se retiraron músculos, fascia epicraneal y periostio de los huesos de la cabeza y se colocaron electrodos bipolares en los huesos parietales para registro del EEG y en el canto externo de los ojos para registro de los movimientos oculares rápidos (EOG), así como electrodos de alambre insertados en los músculos de la nuca para registro del EMG y un electrodo tripolar en el Cuerpo Genuculado Lateral para registro de las ondas PGOs. Todos los electrodos, fueron soldados a un conector y fijados con cemento dental. Adicionalmente, se colocó una cánula de acero inoxidable calibre 21 en el 4 ventrículo. Su colocación fué verificada a

través de la extracción de LCR con una microjeringa Hamilton. En este lugar, la cánula fué fijada con cemento dental. Se colocó un mandril dentro de la cánula para evitar la salida del LCR. Al final de la cirugía se administró penicilina por vía i.m. para prevenir infecciones, así como solución salina fisiológica (10 ml/ kg s.c.) para rehidratar al animal. Se dejaron recuperar durante un periodo mínimo de 7 días tiempo durante el cuál estuvieron bajo el cuidado del médico veterinario. Analgésicos y desinflamatorios fueron administrados en caso de necesidad. El estudio constó de dos partes, en la primera los animales fueron divididos en 6 grupos (n=12). Cada uno de los grupos fué tratado con uno de los siguientes fármacos (Ver Tabla I). Grupo 1: Atropina (0.5 mg/kg, i.p. una hora antes del registro). Grupo 2: Clonidina (0.01 mg/kg, p.o., una hora antes del registro). Grupo 3: Propranolol (10 mg/kg, p.o. una hora antes del registro). Grupo 4: CAP (150 mg/kg i.p. en tres inyecciones espaciadas por 12 horas, la tercera se administró una hora antes del inicio del registro). Grupo 5: PCPA (400 mg/kg i.p. dos inyecciones espaciadas por 24 horas, la segunda se administró 24 horas antes del inicio del registro). El grupo 6: permaneció sin tratamiento para tener parámetros de normalidad. Una o 24 horas después de que cada grupo recibió el fármaco correspondiente se dividieron nuevamente en 2 grupos (n=6). Cada uno de estos grupos recibió una inyección IVT de 50 ul de solución salina o 200 ng de VIP. Inmediatamente después de la inyección IVT se registraron durante 11 horas continuas. En la segunda parte del estudio, todos los sujetos fueron pretratados con PCPA bajo el esquema ya descrito. Después de recibir la PCPA los sujetos se dividieron en

2 grupos (Ver tabla II). Grupo I (n=12): Recibió atropina. Grupo II (n=12): Clonidina ambas a la misma dosis y una hora antes de administrarles salina o VIP. Inmediatamente después de esta inyección i.v.t. se registraron por 11 horas. Los animales se colocaron en una caja de registro sono atenuada y faradizada. Se conectaron a un cable flexible que a su vez estuvo conectado a un conector múltiple giratorio. Este sistema permitió que el gato se desplazara libremente dentro de la cámara de registro. La señal eléctrica se amplificó en un poligrafo marca Grass modelo 79 D. Los animales fueron monitoreados todo el tiempo de registro a través de un circuito cerrado de televisión.

Los registros de sueño obtenidos, fueron calificados de manera visual basados en los criterios estandarizados (Ursin y Sterman, 1972). Cuantificando, el tiempo total en minutos de Vigilia, SOL I y II, y Sueño MOR. Así como, la frecuencia, latencia y duración de sueño MOR. Al final estos resultados fueron sometidos a la prueba estadística de Kruskal-Wallis para corroborar las significancias y una prueba de U-Mann-Whitney para determinar los grupos que contribuyeron a las diferencias.

RESULTADOS

Efecto de la atropina, clonidina, propranolol, CAP y PCPA sobre el ciclo sueño-vigilia de gatos normales.

Los resultados muestran que la administración de propranolol y CAP no modificaron los valores normales de el tiempo total de vigilia. Por su parte, los grupos de atropina y clonidina reducen significativamente el tiempo total de vigilia comparados con los normales ($p < 0.01$, ver tabla I, Fig. 1A y B). Por el contrario, los gatos pretratados con PCPA, incrementaron la vigilia de manera significativa a expensas de la reducción en el tiempo total de las demás fases de sueño ($p < 0.01$).

Asimismo, el SOL I de los grupos tratados con propranolol o CAP tuvo valores normales. Mientras que en los grupos que recibieron atropina o clonidina estuvo aumentado sin que alcanzara significancia estadística. Solamente en los gatos pretratados con PCPA disminuyó considerablemente ($p < 0.01$, ver figura 2A y B).

Respecto al SOL II, todos los fármacos tuvieron una tendencia a aumentar el tiempo total de de esta fase sin que hubieran diferencias importantes, excepto para la PCPA que la suprimió significativamente ($p < 0.01$).

En cuanto al sueño MOR, los resultados muestran que la atropina, clonidina, propranolol, CAP y PCPA reducen el tiempo total de esta fase comparados con los normales ($p < 0.01$, ver tabla I). Dicha disminución es consecuencia de la reducción de todos los parametros de esta fase; es decir, disminuyen la frecuencia y duración (Fig. 5A y B; 6A y B); y aumenta la latencia de sueño MOR de todos los grupos tratados ($p < 0.01$).

Aunque, en el grupo de propranolol sólo la latencia se ve aumentada. Sin embargo, el CAP y la PCPA fueron los que indujeron la mayor latencia para la aparición del primer período MOR ($p < 0.01$, Fig. 7A y B).

En resumen, todos los fármacos probados en este estudio reducen el sueño MOR, afectando uno o todos sus parámetros. Dicha reducción, está probablemente dada a expensas de un incremento en el SOL I y II. Cabe enfatizar que la PCPA afectó de manera diferente el ciclo sueño-vigilia ya que indujo un marcado insomnio a expensas de la disminución tanto del sueño MOR como del SOL I y II.

Efecto del VIP sobre el ciclo sueño-vigilia de gatos tratados con atropina, clonidina, propranolol, CAP y PCPA.

El efecto de reducción sobre el tiempo total de vigilia producido por algunos de los fármacos utilizados es facilitado aún más por el VIP aunque no de manera significativa. En cuanto a la gran cantidad de vigilia inducida por la PCPA, esta es reducida por el VIP ($p < 0.01$). En la mayoría de los grupos, el VIP aumentó el SOL I, sin que llegara a ser significativo. En el grupo tratado con CAP, no hubo tendencia a aumentarlo; mientras que en el grupo tratado con PCPA, el aumento alcanzó significancia ($p < 0.01$). Lo mismo ocurrió en el SOL II. El VIP aumentó esta fase en todos los grupos tratados pero solo fue significativo en el grupo de la PCPA ($p < 0.01$).

Por otra parte, el VIP no restituyó el tiempo total de sueño MOR disminuido por los diferentes tratamientos. Incluso en los grupos con atropina, clonidina ó CAP redujo aún más el tiempo

total. Solamente en el grupo de PCPA el VIP restauró esta fase, facilitando sus parametros: frecuencia, duración y latencia ($p < 0.01$, fig 4A y B), pero no llegó a la normalidad.

El VIP también modificó los parametros de sueño MOR en los diversos tratamientos. En los grupos de atropina y clonidina disminuyó aún más la frecuencia y duración, y aumentó la latencia a el primer sueño MOR. Contrariamente, en el grupo con propranolol incrementó la frecuencia, a valores normales. Igualmente, con los grupos de propranolol o CAP, el VIP incrementó la duración de los eventos de sueño MOR y redujó la latencia para la aparición de esta fase, sin que llegaran a ser significativamente diferentes a su control (Fig. 4A y B; 5A y B, 6A y B, 7A y B).

En resumen, podemos decir que el VIP tiene una fuerte tendencia a reducir el tiempo total de vigilia e incrementar el SOL I y II en todos los tratamientos. Asimismo, es incapaz de modificar la reducción de sueño MOR producida por los diversos fármacos y en la mayoría de los casos lo reduce aún más, excepto en dos grupos, el tratado con propranolol y el tratado con PCPA, donde incrementó el tiempo total de sueño MOR, aunque sólo de manera significativa en el segundo grupo.

A partir de estos resultados, se determina que los efectos más notables producidos por el VIP son los observados en el grupo de PCPA donde incrementó de manera significativa el SOL I y II, y el sueño MOR (ver tabla I y fig 1).

Efecto de la atropina y clonidina sobre el ciclo sueño-vigilia de gatos pretratados con PCPA.

Los resultados muestran que la administración de atropina a

gatos pretratados con PCPA reduce el tiempo total de vigilia (ver Fig. 8A y B) a expensas de un incremento en la cantidad de SOL I y II y de sueño MOR (Fig 9A y B, 10 A y B), aunque el SOL II no fué significativo. El incremento en el sueño MOR es producido a través de un aumento en su frecuencia, duración y disminución de la latencia ($p < 0.05$, ver tabla II y Fig. 11 A y B, 12A y B, 13A y B, 14A y B).

Por otra parte, la administración de clonidina no modificó los valores de insomnio producidos por la PCPA (ver tabla II).

Efecto del VIP sobre el ciclo sueño-vigilia de gatos tratados con PCPA + atropina + clonidina.

PCPA + ATROPINA

La administración de VIP en gatos tratados con PCPA + Atropina tiende a reducir aún más el tiempo total de vigilia, inducido por la atropina por sí sola (Fig. 8A y B). Asimismo, el VIP tuvo una tendencia a incrementar el tiempo total de SOL I, pero reduce el SOL II (Fig 9A y B, 10A y B). Sin embargo, pese a estos cambios ninguno fué significativo.

En cuanto al sueño MOR, el VIP incrementó aún más el efecto producido por la atropina (Fig. 11A y B). Tal incremento fué significativamente diferente de los otros grupos, excepto del grupo de PCPA + VIP. El aumento de sueño MOR fué consecuencia de aumentar la frecuencia y duración, así como de la disminución en la latencia de sueño MOR ($p < 0.01$, ver tabla II y fig. 2A y B, 13A y B, 14A y B).

PCPA + CLONIDINA

Por otra parte, la administración de VIP en los gatos

tratados con PCPA + clonidina, disminuyó significativamente el tiempo total de vigilia comparados con el efecto producido por la clonidina ($p < 0.01$, Fig 9A y B, 1A y B). De la misma manera, incrementó el SOL I. Asimismo, aunque aumentó el SOL II tal incremento no fué significativo. En cuanto al sueño MOR, sucedió el caso contrario, el VIP disminuyó aún más el tiempo total, sin que este aumento fuera significativo (ver tabla II, Fig 11A y B). Tal disminución de sueño MOR modificó también sus parametros: observándose una reducción en la frecuencia, pero un aumento en la duración y disminución de la latencia (Fig. 12A y B, 13A y B, 14A y B).

En resumen, podemos decir que los efectos producidos por el VIP en el ciclo sueño-vigilia de gatos tratados con PCPA + atropina es la de reducir aún más la vigilia e incrementar el SOL I y especialmente el sueño MOR. A su vez, en los gatos con PCPA + clonidina, el VIP redujo de manera significativa el tiempo total de vigilia. Asimismo, incrementó el SOL I y el SOL II, aunque el aumento del SOL II no fué significativo. En el caso de sueño MOR, el VIP lo redujo más, a partir de la modificación de sus parametros: disminución de la frecuencia y de la latencia aunque aumentó en la duración.

Diferencias entre los efectos producidos por la atropina y clonidina en el ciclo sueño-vigilia de gatos normales y pretratados con PCPA.

Efecto de la atropina y clonidina en el ciclo sueño-vigilia de gatos normales

Los efectos producidos por la administración de atropina o clonidina en gatos normales son diferentes a los observados en

gatos pretratados con PCPA. En primer término, la atropina y clonidina en gatos normales reducen la cantidad de vigilia. Asimismo, la atropina y clonidina tuvieron una fuerte tendencia a incrementar el tiempo total de SOL I y II. Sin embargo, ambos fármacos reducen de manera significativa el tiempo total de sueño MOR, comparados con los normales ($p < 0.01$).

Efecto de la atropina y clonidina sobre el ciclo sueño-vigilia de gatos pretratados con PCPA

En los gatos pretratados con PCPA, el efecto producido por la atropina y la clonidina fueron diferentes, ya que la atropina redujo el tiempo total de vigilia e incrementó el SOL I y II, así como el sueño MOR, mientras que la clonidina no modificó el insomnio producido por la PCPA.

En conclusión, podemos decir que el efecto producido por la atropina en gatos normales y pretratados con PCPA, solamente difiere en lo que respecta al sueño MOR, sin afectar la vigilia y el SOL I y II. De esta forma en gatos normales, la atropina reduce el tiempo total de sueño MOR, mientras que en los pretratados con PCPA, lo incrementa.

Asimismo, el efecto producido por la clonidina en gatos normales difiere de los pretratados con PCPA. En gatos normales, la clonidina reduce el tiempo total de vigilia e incrementa el SOL I y II, y reduce el sueño MOR. En tanto que bajo el tratamiento de la PCPA, la clonidina no ejerce ningún efecto aparente.

Diferencias entre los efectos producidos por el VIP sobre el ciclo sueño-vigilia de gatos con atropina o clonidina en condiciones normales y pretratados con PCPA.

La administración de VIP a gatos con atropina o clonidina reduce la vigilia, más de lo que lo hacen los fármacos solos (ver tabla I y fig 1 A y B). Asimismo, en ambos grupos el VIP incrementa el SOL I y II. Además, la administración de VIP no modifica la reducción de sueño MOR producido por los dos tratamientos e incluso disminuye aún más el tiempo total de esta fase.

A su vez, los efectos producidos por el VIP en los gatos pretratados con PCPA + atropina o clonidina son diferentes. La administración de VIP en el grupo de PCPA + atropina reduce la cantidad de vigilia e incrementa el SOL I y II, así como el sueño MOR, comparados con su salina. Sin embargo, dichos cambios solo son significativos para el sueño MOR ($p < 0.01$). En el caso de la clonidina, el VIP fué capaz de reducir significativamente los valores de vigilia producidos por la PCPA + clonidina. Sin embargo, fué incapaz de incrementar el tiempo total de SOL I. Asimismo, disminuyó más el sueño MOR. Aunque, aumentó la duración y redujo la latencia ($p < 0.01$ ver tabla II y fig. 2A y B, 14A y B).

TABLA I

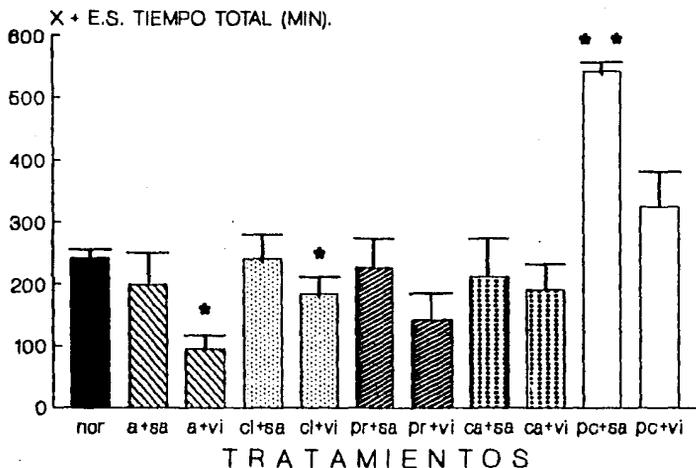
X + E. S. DE LOS EFECTOS DEL VIP SOBRE LOS PARAMETROS DE SUERO DE GATOS
PRETRATADOS CON ATROPINA, CLONIDINA, PROPRANOLOL, CAP Y PCPA.

	TTW	TTSLI	TTSLII	TTMOR	FREQ. REM	DUR. REM	LAT. REM
NORMALES	241.3 _± 16.0	207.2 _± 14.3	105.4 _± 10.7	105.0 _± 9.6	24.6 _± 2.3	4.3 ± 0.3	82.1 _± 25.7
ATROPINA + SAL	198.7 _± 53.7	256.2 _± 13.1	186.8 _± 62.1	42.0 _± 9.0	13.6 _± 2.2	3.0 ± 0.4	145.2 _± 67.3
ATROPINA + VIP	95.0 _± 22.4	277.7 _± 71.8	252.2 _± 61.2	35.0 _± 14.1	12.6 _± 2.4	2.6 ± 0.6	240.2 _± 58.9
CLONIDINA + SAL	240.7 _± 54.1	251.8 _± 16.7	141.5 _± 49.5	26.0 _± 5.0	17.5 _± 2.5	1.6 ± 0.3	159.7 _± 50.2
CLONIDINA + VIP	183.1 _± 32.1	293.0 _± 39.8	166.1 _± 36.8	17.9 _± 5.0	15.5 _± 4.1	1.0 ± 0.3	240.9 _± 108.6
PROPRANOLOL + SAL	226.0 _± 52.0	199.6 _± 27.0	185.5 _± 44.5	48.4 _± 18.0	16.6 _± 3.7	3.4 ± 0.8	136.4 _± 21.5
PROPRANOLOL + VIP	142.2 _± 49.3	195.3 _± 35.1	252.3 _± 73.8	63.0 _± 14.2	19.3 _± 3.3	3.4 ± 0.4	157.0 _± 0.4
CAP + SAL	211.6 _± 70.6	196.0 _± 39.0	216.2 _± 74.1	36.2 _± 13.3	13.3 _± 4.0	2.4 ± 0.6	332.3 _± 190.0
CAP + VIP	190.0 _± 43.0	190.8 _± 24.8	244.3 _± 58.0	35.0 _± 12.1	9.5 _± 1.4	3.4 ± 0.7	234.4 _± 53.7
PCPA + SAL	540.0 _± 27.0	99.4 _± 19.0	17.1 _± 10.5	3.4 _± 3.0	3.2 _± 2.7	0.5 ± 0.2	510 ±102.6
PCPA + VIP	324.3 _± 57.2	254.0 _± 58.7	46.8 _± 17.5	33.0 _± 9.7	13.8 _± 1.8	2.4 ± 0.7	97.1 _± 26.7

- * p < 0.01 NORMALES VS TODOS LOS GRUPOS
- ** p < 0.01 PCPA + SAL VS TODOS LOS GRUPOS
- *** p < 0.01 NORMALES VS TODOS LOS GRUPOS, PERO NO VS PROP + VIP
- * p < 0.01 CAP + VIP VS ATROP + SAL, CLON + SAL, PROP + VIP Y PCPA SAL PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.
- ** p < 0.01 NORMALES VS TODOS LOS GRUPOS, EXCEPTO PROP + SAL Y CAP + VIP
- *** p < 0.01 CLONIDINA + VIP VS TODOS LOS GRUPOS, EXCEPTO CON CLON + SAL Y PCPA + SAL
- * p < 0.01 ATROPINA + SAL VS CLON + SAL, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS
- ** p < 0.01 CLONIDINA + SAL VS PROP + VIP Y CAP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS
- *** p < 0.01 PROPRANOLOL + VIP VS CAP + SAL, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS
- ! p < 0.01 NORMALES VS ATR + VIP, PCPA + SAL, CAP + SAL Y CAP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.
- !! p < 0.01 CAP + SAL VS ATROP + SAL, CLON + SAL, PCPA + VIP, PROP + SAL Y PROP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.
- !!! p < 0.01 PCPA + VIP VS ATROP + VIP Y CAP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS
- = p < 0.01 NORMALES VS ATRP + VIP, CLON + VIP Y PCPA + SAL, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.
- == p < 0.01 PCPA + VIP VS ATROP + VIP, CLON + VIP Y PROP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.
- === p < 0.01 ATROP + VIP VS CLON + SAL, CLON + VIP, PROP + SAL Y CAP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.
- # p < 0.01 NORMALES VS ATROP + VIP, CLON + VIP, PCPA + SAL, PCPA + VIP Y CAP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.
- ## p < 0.01 PCPA + VIP VS TODOS LOS GRUPOS, EXCEPTO CON ATROP + SAL
- ### p < 0.01 CLON + VIP VS PROP + SAL, CAP + SAL Y CAP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.
- & p < 0.01 ATROP + SAL VS PROP + VIP Y CAP + VIP, PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS.

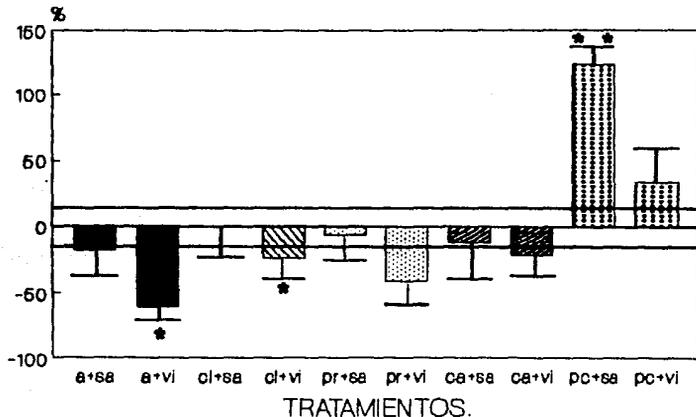
FIG 1A

VIGILIA



VIGILIA. NORMALES

FIG 1B

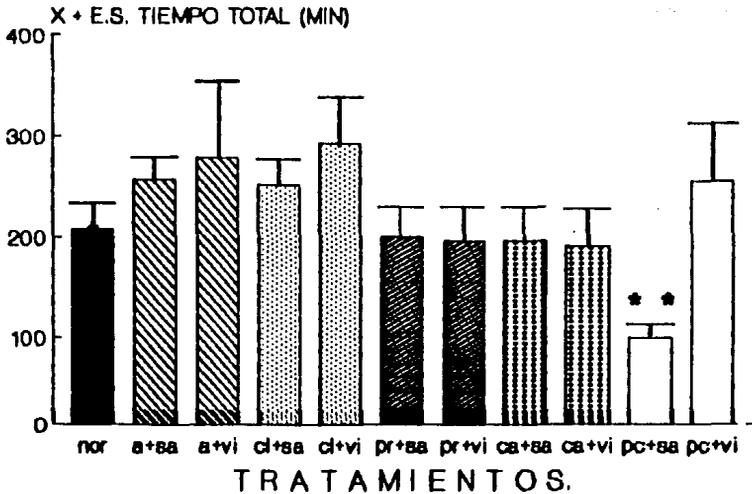


EL PANEL A: ILUSTRAR EL EFECTO DE LOS DIVERSOS TRATAMIENTOS SOBRE EL TIEMPO TOTAL DE VIGILIA. COMO SE OBSERVA, LA MAYORÍA DE LOS FÁRMACOS NO MODIFICAN ESTA FASE, EXCEPTO LA PCPA QUE LA AUMENTA DE FORMA IMPORTANTE. TAMBIÉN PODEMOS OBSERVAR QUE EL VIP REDUCE LA VIGILIA SIGNIFICATIVAMENTE EN LOS GRUPOS TRATADOS CON ATROPINA Y CLENIDINA, MIENTRAS QUE EN EL GRUPO TRATADO CON PCPA REVIERTE EL INSOMNIO.

EL PANEL B: REPRESENTA EL % DE AUMENTO O DISMINUCIÓN DE LA VIGILIA PRODUCIDA POR LOS DIVERSOS TRATAMIENTOS. EL CERO REPRESENTA EL 100% DE LA FASE EN LOS NORMALES, LAS LÍNEAS HORIZONTALES REPRESENTAN EL ERROR ESTÁNDAR. TODAS LAS GRÁFICAS QUE REPRESENTAN PORCENTAJES ESTÁN HECHAS DE LA MISMA MANERA. COMO PUEDE OBSERVARSE EN ÉSTA, LA MAYORÍA DE LOS FÁRMACOS NO LO AUMENTAN. ADEMÁS, PUEDE OBSERVARSE EL EFECTO DEL VIP SOBRE EL AUMENTO DE LA FASE PRODUCIDA POR LA PCPA.

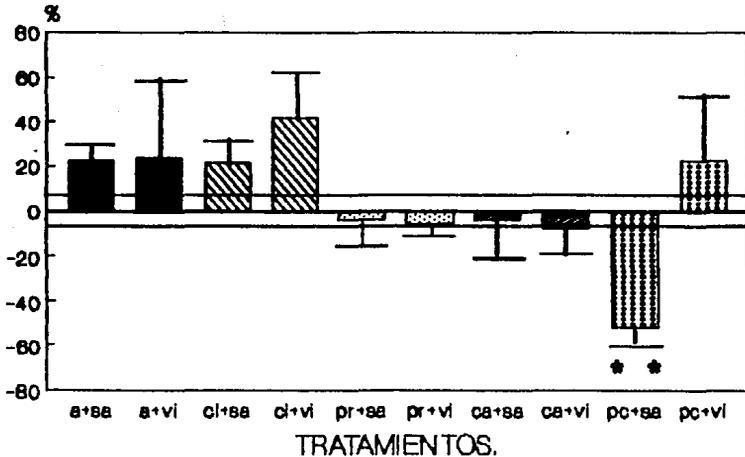
FIG 2A

SUENO LENTO I.



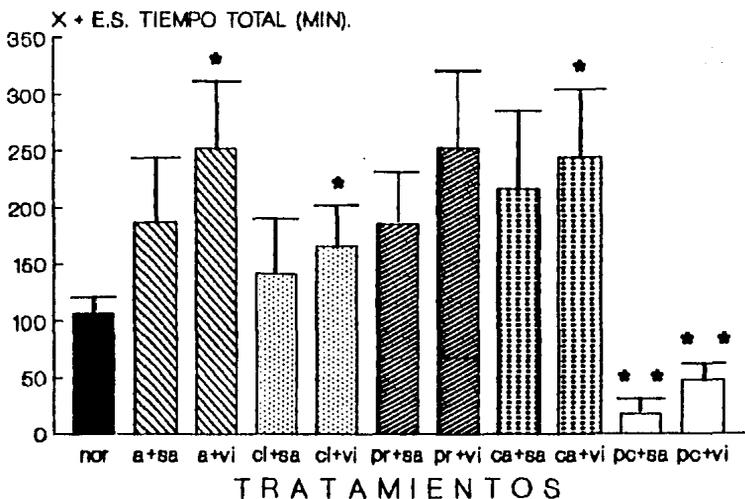
SUENO LENTO I NORMALES

FIG 2B



EFFECTO DE DIVERSOS FÁRMACOS SOBRE EL TIEMPO TOTAL DE SUEÑO LENTO I. LA MAYORÍA DE LOS FÁRMACOS NO ALTERA ESTA FASE, EXCEPTO LA PCPA QUE LA DISMINUYE SIGNIFICATIVAMENTE RESPECTO A LOS NORMALES Y AL RESTO DE LOS GRUPOS TRATADOS. ASÍMISMO, LA ADMINISTRACIÓN DE VIP SOLO MODIFICA EL EFECTO PRODUCIDO POR LA PCPA COMO PUEDE APRECIARSE MEJOR EN LA PARTE B DE ESTA FIGURA.

FIG 3A SUENO LENTO II.



SUENO LENTO II NORMALES

FIG 3B

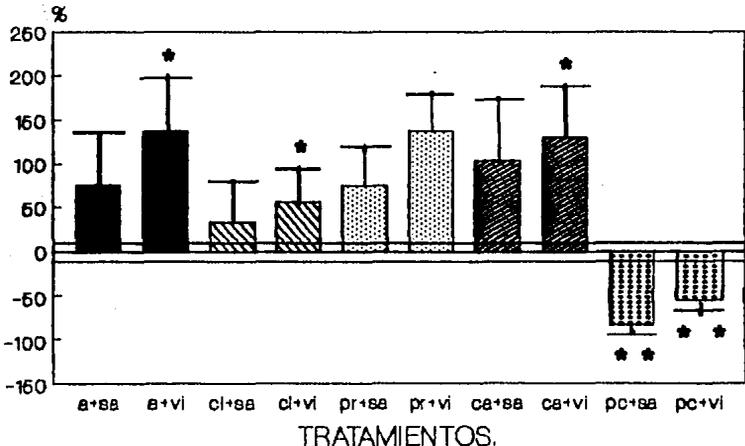
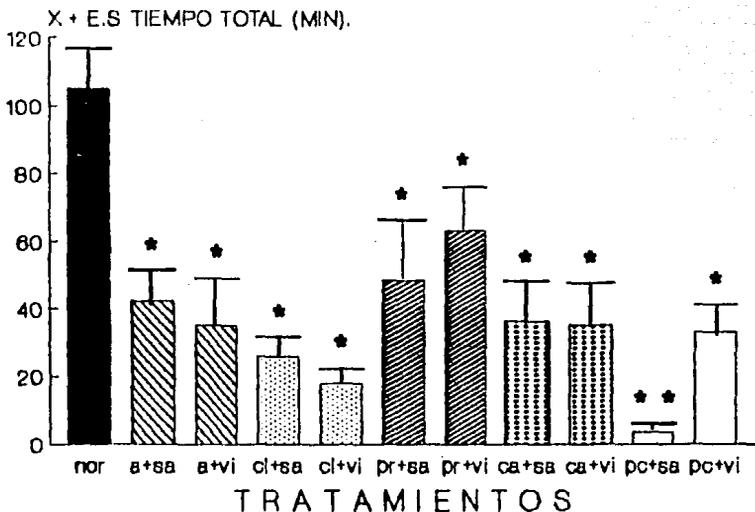


FIG. 3. ESQUEMA QUE REPRESENTA EL TIEMPO TOTAL DE SUEÑO LENTO II PRODUCIDO POR LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. COMO PUEDE OBSERVARSE, DE TODOS LOS FÁRMACOS, SOLAMENTE LA PCPA REDUCE SIGNIFICATIVAMENTE ESTA FASE EN TODOS LOS GRUPOS TRATADOS.

FIG. 3B. EN ESTA FIGURA PUEDE OBSERVARSE QUE PESE AL AUMENTO PRODUCIDO POR EL VIP EN EL SUEÑO LENTO II DE GATOS BAJO LOS EFECTOS DE INSOMNIO PRODUCIDOS POR LA PCPA, NO NORMALIZA DICHO ESTADO.

FIG 4A

MOR



MOR NORMALES

FIG 4B

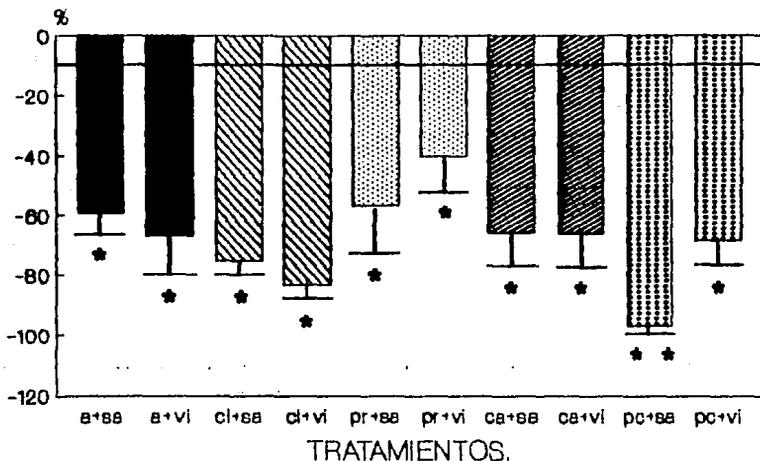
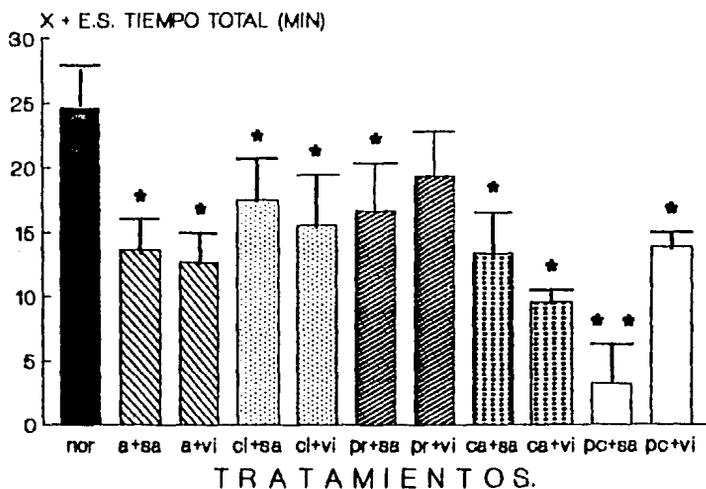


FIG. 4A. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO DE DIVERSOS TRATAMIENTOS SOBRE EL SUEÑO MOR. COMO SE OBSERVA, TODOS LOS FÁRMACOS REDUCEN EL TIEMPO TOTAL DE SUEÑO MOR DE MANERA SIGNIFICATIVA. ASIMISMO, LA ADMINISTRACIÓN DE VIP SOLAMENTE RESTITUYE ESTA FASE EN EL GRUPO DE PCPA.

FIG. 4B. TODOS LOS TRATAMIENTOS REDUCEN EL % DE MOR DE MANERA SIGNIFICATIVA. ADEMÁS, EL VIP ES INCAPAZ DE AUMENTAR ESTA FASE, EXCEPTO EN EL GRUPO DE LA PCPA.

FIG 5A

FRECUENCIA DE SUEÑO MOR.



FRECUENCIA DE MOR NORMALES

FIG 5B

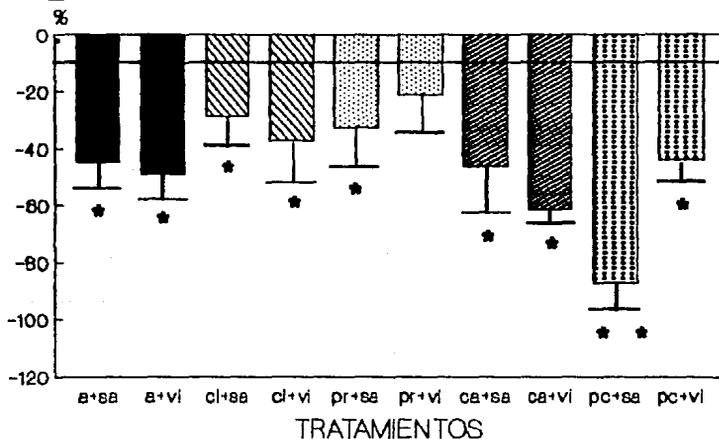
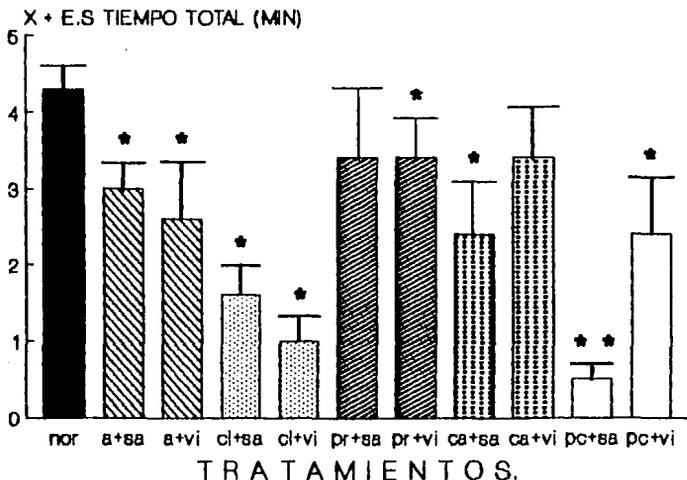


FIG. 5A. GRÁFICA QUE REPRESENTA EL EFECTO DE LOS DIVERSOS TRATAMIENTOS SOBRE LA FRECUENCIA DE SUEÑO MOR. TODOS LOS FÁRMACOS REDUCEN LA FRECUENCIA DE MANERA SIGNIFICATIVA. LA ADMINISTRACIÓN DE VIP NO REVIERTE DICHA DISMINUCIÓN EN LA MAYORÍA DE LOS GRUPOS, A EXCEPCIÓN DE LOS GRUPOS DE PROPRANOLOL Y PCPÁ.

FIG. 5B. EN ESTA FIGURA PUEDEN APRECIARSE MEJOR DICHOS CAMBIOS.

FIG 6A

DURACION DE SUEÑO MOR.



DURACION DE MOR NORMALES

FIG 6B

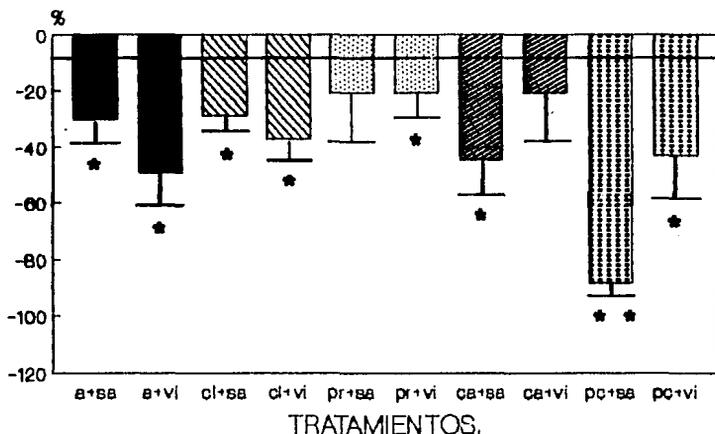


FIG. 6A. GRÁFICA QUE ILUSTRAR LOS CAMBIOS EN LA DURACIÓN DE SUEÑO MOR PRODUCIDOS POR DIVERSOS TRATAMIENTOS. COMO OBSERVAMOS, LA MAYORÍA DE LOS FÁRMACOS REDUCEN LA DURACIÓN DE ESTA FASE, EXCEPTO EL PROPRANOLOL. ADICIONALMENTE, LA ADMINISTRACIÓN DE VIP REVIERTE LA DISMINUCIÓN PRODUCIDA POR EL CAP Y LA PCPA.

FIG. 6B. ESTA FIGURA ILUSTRAR DICHAS REDUCCIONES ASÍ COMO LOS AUMENTOS PRODUCIDOS POR EL VIP EN LOS GRUPOS DE CAP Y PCPA.

FIG 7A

LATENCIA DE SUEÑO MOR.

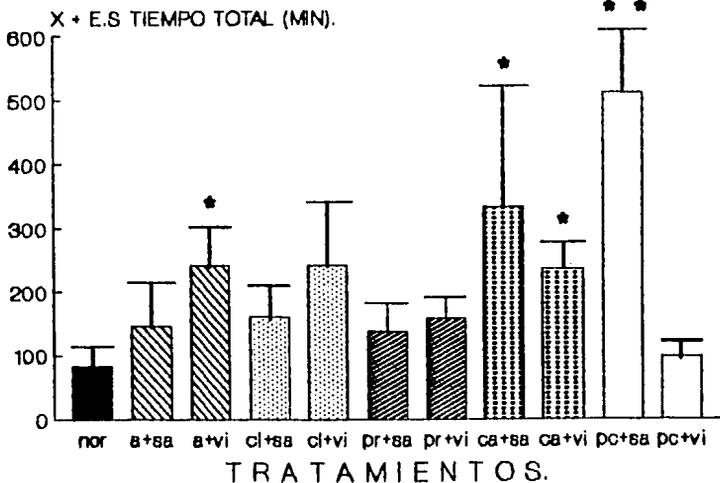
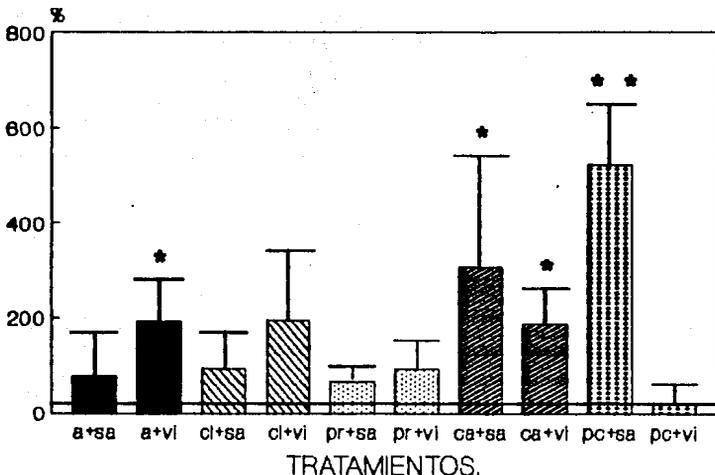


FIG 7B

LATENCIA DE MOR



GRÁFICA 7A. ESTA REPRESENTA EL EFECTO DE LOS DIVERSOS FÁRMACOS SOBRE LA LATENCIA PARA SUEÑO MOR. COMO OBSERVAMOS, SOLAMENTE EL CAP Y LA PCPA, AUNQUE EN EL GRUPO DE ATROPINA INCREMENTO AÚN MÁS LA LATENCIA PARA SUEÑO MOR.

FIG. 7B. ESTA FIGURA MUESTRA DICHOS CAMBIOS, OBSÉRVESE COMO EL VIP DISMINUYE LA ENORME LATENCIA PRODUCIDA POR LA PCPA A VALORES NORMALES.

TABLA II

X + E.S. DE LOS EFECTOS DEL VIP SOBRE EL CICLO SUENO-VIGILIA DE GATOS PRETRATADOS CON PCPA, PCPA + ATROPINA Y PCPA + CLONIDINA

	TTW	TTSWSI	TTSWSII	TTREM	FREQ. REM	DUR. REM	LAT. REM
PCPA + SAL	540 \pm 27.0 *	99.4 \pm 19.0 *	17.12 \pm 10.5	3.42 \pm 3.0 ***	3.16 \pm 2.7	0.49 \pm 0.24	509.9 \pm 102.6
PCPA + VIP	324.2 \pm 57.2	254.0 \pm 58.7	46.8 \pm 17.5	33.0 \pm 9.7	13.8 \pm 1.8 ^{ooo}	2.4 \pm 0.7 ⁺⁺	97.12 \pm 26.68 ^{ooo}
PCPA + ATROP + SAL	377 \pm 52.1	184.0 \pm 29.3	73.0 \pm 34.5	25.7 \pm 10.5	8.5 \pm 3.93	2.91 \pm 0.83 ⁺⁺	299.4 \pm 109.0
PCPA + ATROP + VIP	323.7 \pm 32.7	240.0 \pm 44.4	48.1 \pm 10.4	48.17 \pm 10.4 ^o	17.5 \pm 4.6 ^{ooo}	3.01 \pm 0.62 ⁺⁺	108.5 \pm 91.5 ^{ooo}
PCPA + CLON + SAL	481.2 \pm 42.4	146.0 \pm 42.7	23.35 \pm 17.2	9.3 \pm 8.2 ^{oo}	5.16 \pm 3.32	0.85 \pm 0.42	411.4 \pm 109.1
PCPA + CLON + VIP	364.7 \pm 39.0 ^{**}	244.8 \pm 36.0 ^{**}	36.0 \pm 15.4	3.17 \pm 0.95 ^{oo}	4.3 \pm 1.35	1.01 \pm 0.25	339.0 \pm 79.3

* P < 0.05 SAL VS TODOS LOS GRUPOS, EXCEPTO CLON + SAL

** P < 0.05 CLON + VIP VS CLON + SAL PERO NO VS EL RESTO DE LOS GRUPOS

*** P < 0.01 SAL VS VIP, ATROP + SAL Y ATROP + VIP PERO NO VS CLON + SAL Y CLON + VIP

^o P < 0.01 ATROP + VIP VS TODOS LOS GRUPOS EXCEPTO VIP

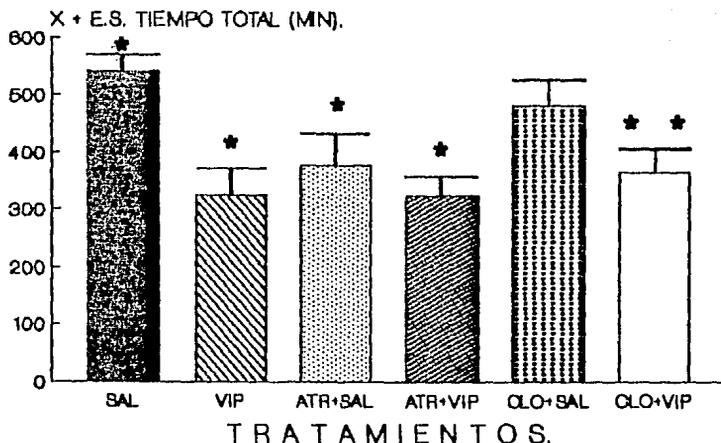
^{oo} P < 0.01 CLON + SAL Y CLON + VIP VS ATROP + SAL, ATROP + VIP Y VIP PERO NO VS SAL

^{ooo} P < 0.01 VIP Y ATROP + VIP VS TODOS LOS GRUPOS EXCEPTO ATROP + SAL

⁺⁺ P < 0.01 VIP, ATROP + SAL Y ATROP + VIP VS EL RESTO DE LOS GRUPOS

VIGILIA PCPA

FIG 8A



VIGILIA PCPA

FIG 8B

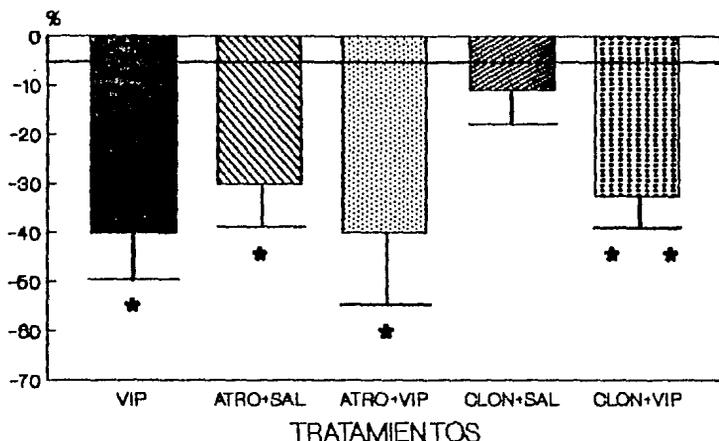


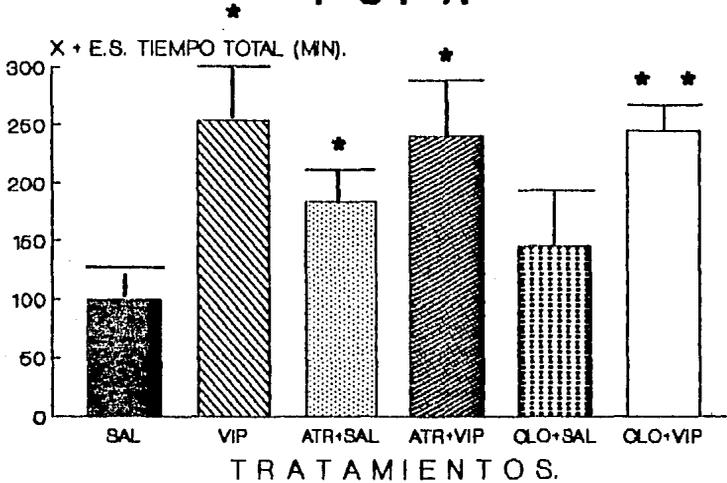
FIG. 8A. GRÁFICA QUE MUESTRA EL EFECTO PRODUCIDO POR LA ATROPINA Y CLONIDINA EN GATOS PRETRATADOS CON PCPA EN EL TIEMPO TOTAL DE VIGILIA. COMO SE OBSERVA, LA ATROPINA REDUCE ESTA FASE MIENTRAS QUE LA CLONIDINA NO MODIFICA EL INSOMNIO PRODUCIDO POR LA PCPA. ADICIONALMENTE, LA ADMINISTRACIÓN DE VIP REDUCE AÚN MÁS LA CANTIDAD DE VIGILIA DE MANERA SIGNIFICATIVA.

FIG. 8B. GRÁFICA QUE ESQUEMATIZA EL % DE AUMENTO O DISMINUCIÓN DE LOS CAMBIOS MENCIONADOS EN EL TIEMPO TOTAL DE VIGILIA.

SUENO LENTO I.

FIG 9A

P C P A



SUENO LENTO I

P C P A

FIG 9B

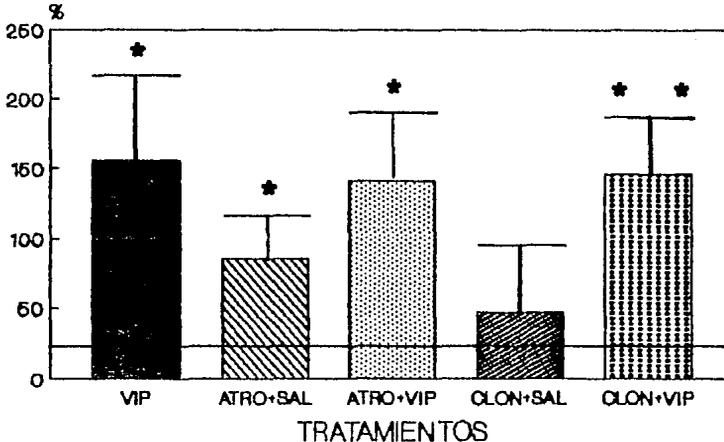


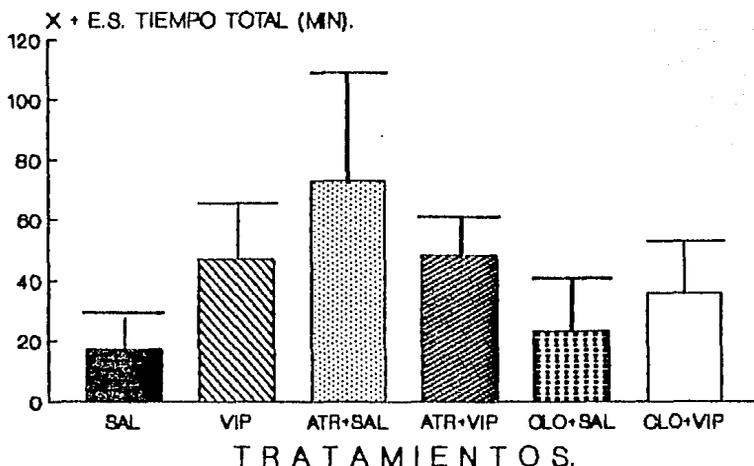
FIGURA 9A, EFECTO DE LA ATROPINA Y CLONIDINA Y EL VIP SOBRE EL SUEÑO LENTO I EN GATOS TRATADOS CON PCPA. LA ATROPINA AUMENTA ESTA FASE MIENTRAS QUE LA CLONIDINA NO LA MODIFICA, ADEMÁS LA ADMINISTRACION DE VIP AUMENTA EL SUEÑO LENTO I EN TODOS LOS TRATAMIENTOS.

FIG. 9B. ESTA MUESTRA LOS INCREMENTOS EN ESTA FASE DE SUEÑO, COMO SE OBSERVA EL VIP TIENE UN EFECTO IMPORTANTE SOBRE TODOS LOS GRUPOS.

SUENO LENTO II.

FIG 10A

P C P A



SUENO LENTO II

P C P A

FIG 10B

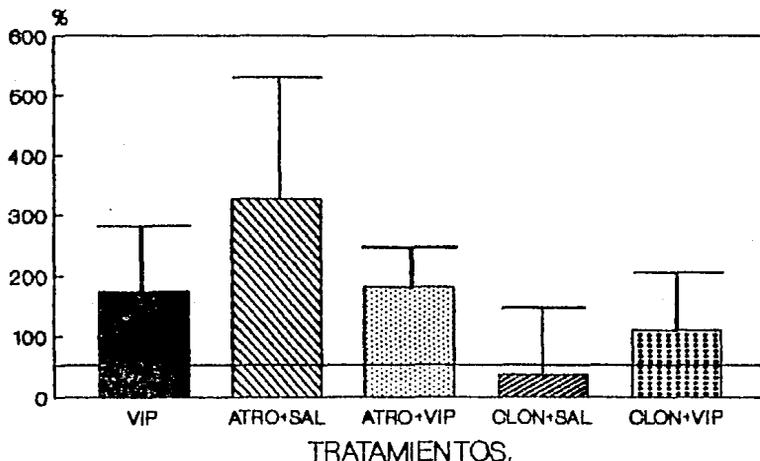
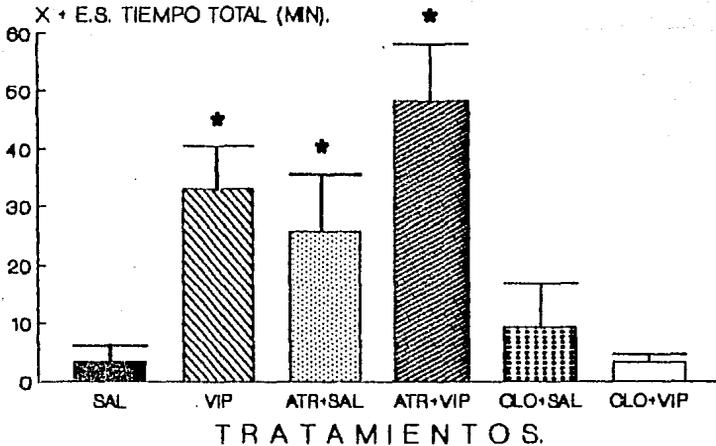


FIG. 10A. LA ADMINISTRACIÓN DE ATROPINA Y CLONIDINA NO MODIFICAN DE MANERA SIGNIFICATIVA EL TIEMPO TOTAL DE SUEÑO LENTO II DE GATOS BAJO LOS EFECTOS DE LA PCPA, ASIMISMO EL VIP NO TIENE NINGÚN EFECTO ADICIONAL SOBRE ESTA FASE.

FIG. 10B. ESTA REPRESENTA EL % DEL AUMENTO NO SIGNIFICATIVO EN LA CANTIDAD DE SUEÑO LENTO I.

MOR. PCPA

FIG 11A



SUENO MOR PCPA

FIG 11B

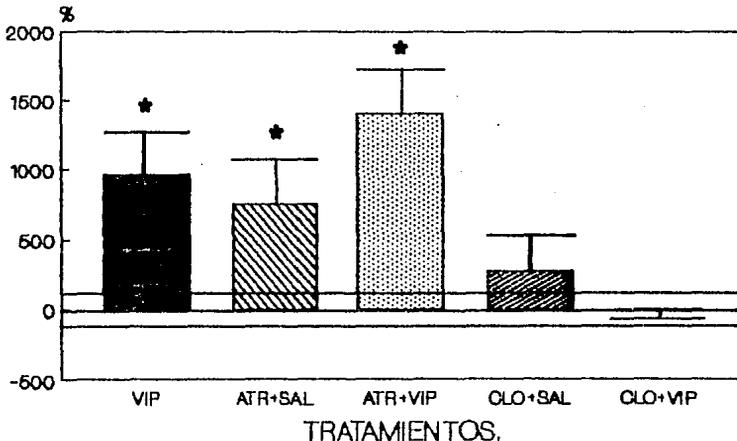
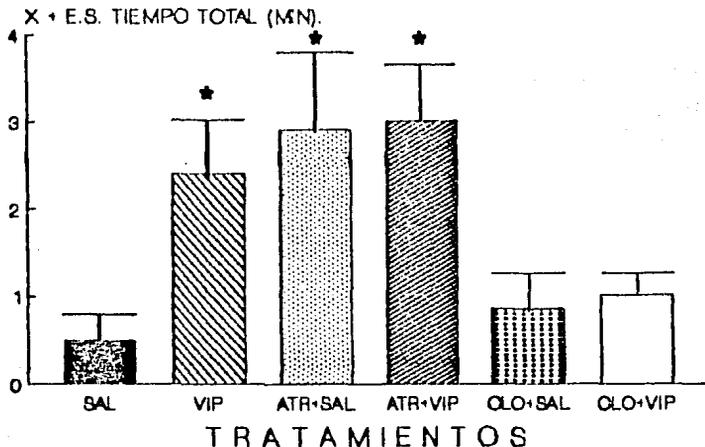


FIG. 11A, EL PANEL A REPRESENTA EL EFECTO PRODUCIDO POR LA ATROPINA, CLONIDINA Y VIP EN GATOS PRETRATADOS CON PCPA. COMO PODEMOS OBSERVAR, LA SOLA ADMINISTRACION DE ATROPINA INCREMENTA ESTA FASE MIENTRAS QUE LA CLONIDINA NO PRODUCE NINGUN EFECTO. ADICIONALMENTE, LA ADMINISTRACION DE VIP REVIERTE EL INSOMNIO DE LA PCPA Y AUMENTA AUN MAS EL EFECTO DE LA ATROPINA MIENTRAS QUE EN EL GRUPO DE CLONIDINA NO MODIFICA LOS VALORES DE INSOMNIO, FIG. 11B, AQUÍ PUEDEN APRECIARSE MEJOR ESTOS CAMBIOS, LA ATROPINA INCREMENTA ESTA FASE AL IGUAL QUE EL VIP MIENTRAS QUE LA CLONIDINA

FIG 12A

DURACION DE SUEÑO MOR. PCPA



DURACION DE MOR PCPA

FIG 12B

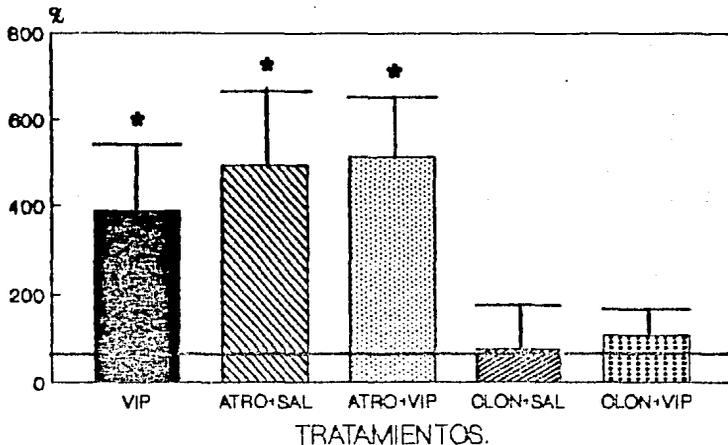
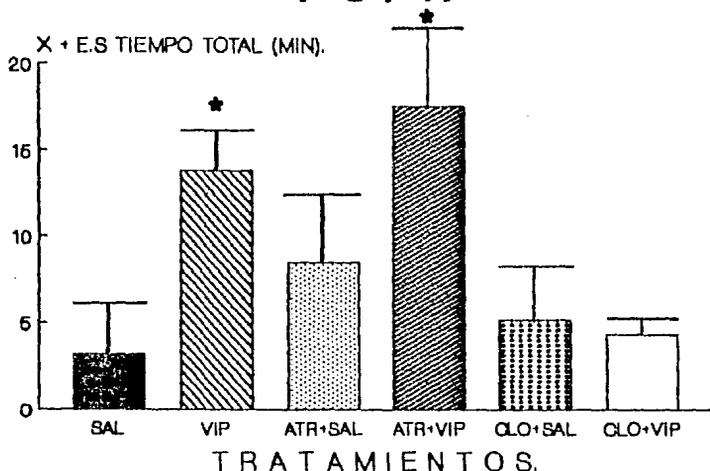


FIG. 12A. EFECTO DE LA ATROPINA, CLONIDINA Y VIP SOBRE LA DURACION DE SUEÑO MOR DE GATOS PRETRATADOS CON PCPA. LA ATROPINA AUMENTA LA DURACION DE ESTA FASE MIENTRAS QUE LA CLONIDINA NO MODIFICA LOS VALORES PRODUCIDOS POR LA PCPA. ASIMISMO, LA ADMINISTRACION DE VIP INDUCE UN AUMENTO EN LOS GRUPOS CON PCPA Y PCPA + ATROPINA Y NO TIENE NINGUN EFECTO EN EL GRUPO DE CLONIDINA.

FIG. 12B. EN ESTE SE OBSERVA EL PORCENTAJE DE DICHSO CAMBIOS.

FIG 13A
FRECUENCIA DE SUEÑO MOR.
PCPA



FRECUENCIA DE MOR
PCPA

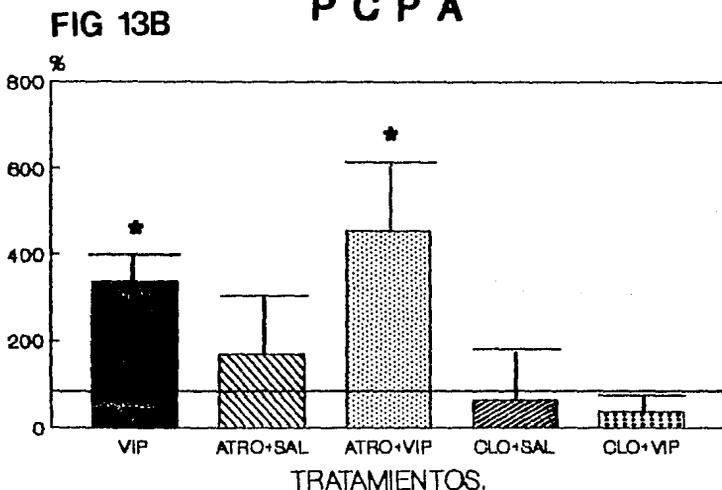


FIG. 13A. EFECTO DE LA ATROPINA Y CLONIDINA SOBRE LA FRECUENCIA DE SUEÑO MOR DE GATOS CON PCPA. LA ATROPINA AUMENTA EL NUMERO DE PERIODOS DE ESTA FASE, EL VIP AUMENTA ESTA FASE TAMBIÉN EN EL GRUPO DE PCPA Y EN EL DE PCPA + ATROPINA. POR EL CONTRARIO, EN LA CLONIDINA NO SE GENERA NINGÚN CAMBIO, PERO SI PREVIENE EL EFECTO DEL VIP.

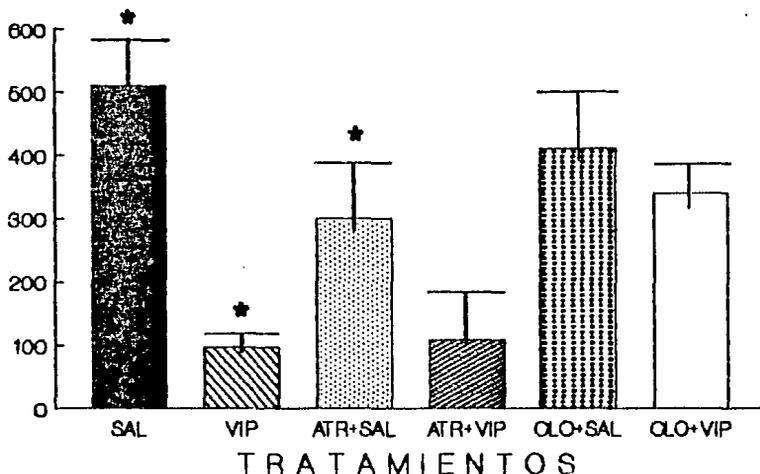
FIG. 13B. REPRESENTA EL PORCENTAJE DE LOS CAMBIOS.

FIG 14A

LATENCIA DE SUEÑO MOR.

X ± E.S. TIEMPO TOTAL (SEG)

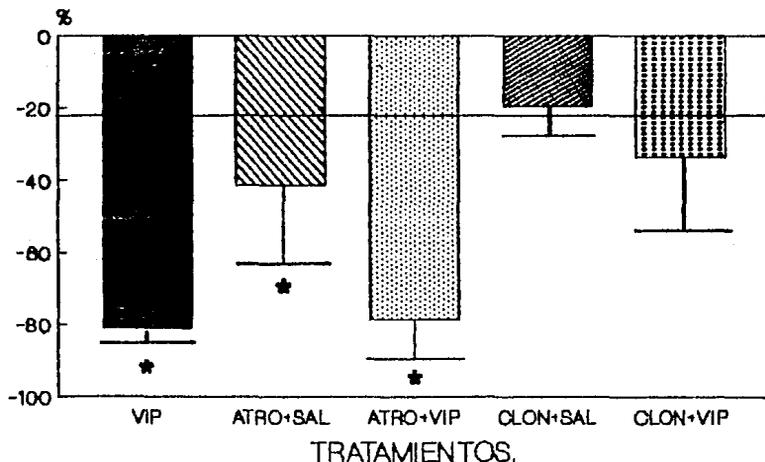
P C P A



LATENCIA DE MOR

P C P A

FIG 14B



Gráfica 14A. Representa que la PCPA aumenta la latencia de sueño MOR, efecto que es reducido por la atropina y el VIP. Por el contrario, la clonidina no modifica los valores producidos por la PCPA e impide el efecto del VIP.

En la figura 14B se representan los % de cambio de los diferentes grupos.

DISCUSION

A pesar de que se ha demostrado una estrecha relación entre neurotransmisores y neuropéptidos para la modulación de diversas conductas (Tublitz y cols, 1983), este es el primer trabajo que sugiere una estrecha relación entre dichas sustancias para la inducción de sueño.

Los resultados muestran que la atropina disminuye la cantidad de sueño MOR probablemente porque disminuye la actividad de la Ach. El mismo efecto es observado con fármacos que disminuyen la actividad de la NE, tales como la clonidina y el propranolol. Asimismo la PCPA, produce la supresión de sueño MOR y de SOL, incrementando la vigilia. La inhibición en la síntesis de proteínas producida por el CAP reduce la aparición de sueño MOR, sin afectar los demás parámetros. Sin embargo, el VIP solo tiene efecto en el insomnio producido por la PCPA, incrementando sueño MOR y SOL I y II, reduciendo consecuentemente la vigilia.

Por otra parte, uno de los efectos más interesantes que obtuvimos fué que la atropina restituye el sueño MOR en los gatos insomnes por PCPA. Este efecto es facilitado por el VIP. Por el contrario, la administración de clonidina no modificó el insomnio producido por la PCPA y el VIP fué incapaz de revertir dicho estado e incluso redujo más el tiempo total de sueño MOR.

INTERACCION DE LA Ach Y DEL VIP PARA EL CONTROL DE SUEÑO MOR

La participación de la Ach en el control del sueño MOR, ha sido sugerida en numerosos trabajos. Se ha descrito, que durante el sueño MOR ocurre la mayor liberación de Ach cortical (Celesia y Jasper, 1964) así como en estructuras subcorticales tales como

el estriado (Gadea-Ciria, 1973). Asimismo, se ha demostrado (Hernández-Peón, 1963) que la administración local de microcristales de Ach en diversas áreas del sistema límbico, ó de colinomiméticos, tales como el carbacol, en la formación reticular pontina (FRP) (Baghdoyan y cols, 1973), incrementan la aparición de sueño MOR; mientras que antagonistas colinérgicos tales como la atropina, lo reducen. Recientemente, Baghdoyan y cols, (1987), han demostrado que en la FRP existe un gradiente neuroanatómico colinoceptivo que favorece la aparición de sueño MOR, sugiriendo que el tegmento pontino anterodorsal es el punto óptimo para la generación del sueño MOR por estimulación colinérgica.

Adicionalmente, la localización de la enzima colina acetil transferasa, enzima responsable de la síntesis de Ach (Kimura y cols, 1983), en diversas regiones del cerebro y del tallo cerebral que se han involucrado en el control del sueño, sugiere que las neuronas que responden a la estimulación colinérgica aumentando el sueño MOR, no solamente son colinoceptivas sino que probablemente son también colinérgicas.

Por otro lado, el VIP se encuentra ampliamente difundido en el cerebro de ratas (Loren y cols, 1979) y gatos (Obata-Tsuto, 1983), localizándose en el tallo cerebral, particularmente en el núcleo del tracto solitario, en el LC, núcleo del rafe, área postrema y núcleo parabraquiallis entre otras, así como en estructuras anteriores como la corteza cerebral, núcleo supraquiasmático y amígdala. Asimismo, se ha demostrado que el VIP y la Ach coexisten en áreas discretas del cerebro y en los ganglios periféricos (Mo y cols, 1984) y que dicha interacción

modula diversas respuestas fisiológicas. Además, Misbahuddin y cols, (1986), demostraron que el VIP tiene un efecto estimulante selectivo en los receptores muscarínicos para mediar la secreción de catecolaminas en células de la médula adrenal. Posiblemente, dicha interacción ocurra durante el ciclo sueño-vigilia.

Los resultados muestran que el bloqueo de los receptores colinérgicos reduce el sueño MOR e impide el efecto inductor de sueño del VIP. Esto sugiere, que para la generación de sueño MOR espontáneo e inducido por el VIP, se necesita de la presencia de Ach. Por otro lado, hemos demostrado (Prospéro-García y cols, 1989) que el carbacol administrado en la FRP de gatos pretratados con CAP, no aumenta el sueño MOR. Esto apoya la posibilidad de que sea necesaria una interacción entre Ach y proteínas o neuropéptidos, - quizá el VIP - para la producción de sueño MOR.

Por otra parte, la administración de atropina a gatos pretratados con PCPA, incrementa la cantidad de SOL I y de sueño MOR. Ambos efectos son facilitados por el VIP. Estos resultados señalan que la inhibición adicional de la Ach en los gatos con 5-HT disminuida estimula los mecanismos disparados de sueño MOR. Hay evidencias que apoyan esta posibilidad ya que demuestran que el carbacol administrado en la FRP no estimula la aparición de sueño MOR en gatos pretratados con PCPA (Drucker-Colin y Prospéro-García, 1988); sin embargo inhibe parcialmente el efecto del VIP (Drucker-Colin y cols, 1988). Nuestros resultados demuestran que la inhibición de ambos sistemas (

colinérgico y serotoninérgico) facilita aún más la acción del VIP comparado con el efecto de este péptido en los gatos que solo fueron pretratados con PCPA. A partir de estas evidencias, se sugiere que cuando los niveles de 5-HT están abatidos, la atropina y el VIP disminuyen los niveles de Ach y por tanto estimulan la aparición de sueño.

Esto sugiere, que existe una alta interacción entre Ach, 5-HT y VIP para la producción de sueño.

INTERACCION DE LA NE Y DEL VIP PARA EL CONTROL DE SUEÑO MOR

A pesar de que el papel de la NE en la modulación de sueño MOR, aún no es clara, existen reportes que demuestran que la inhibición de este neurotransmisor disminuye dicha fase. Por ejemplo, Hilakivi y cols, (1982); han demostrado que fármacos agonistas de los receptores alfa-2-adrenérgicos, tales como la clonidina- que reduce la biodisponibilidad de NE - suprimen el sueño MOR. Además el bloqueo de los receptores beta 1 y 2 adrenérgicos con el propranolol, disminuye el SOL II y el sueño MOR en ratas normales, estas evidencias apoyan la participación de la NE en la modulación de sueño MOR.

Por otra parte, se ha demostrado que la NE también participa en el mantenimiento de la vigilia. Hernández-Peón, (1963); demostró que la aplicación de microcristales de NE y E en el hipotálamo inducen un estado de vigilia con desincronización cortical. Esto parece ser cierto, ya que registros de actividad unitaria han demostrado que neuronas noradrenérgicas, localizadas en el LC están muy activas durante la vigilia y disminuyen gradualmente su tasa de disparo durante la transición de vigilia a SOL, para cesar por completo su actividad durante la fase de

sueño MOR (Harper y cols. 1980). Lo que finalmente sugiere, que las neuronas noradrenérgicas del LC no son las responsables de generar el sueño MOR. Por otro lado, Siegel y Rogawsky. (1988), proponen que la funcionalidad de sueño MOR es la de regular la sensibilidad de los receptores noradrenérgicos, sugiriendo que los niveles de NE disminuyen durante el sueño MOR y por tanto la sensibilidad de los receptores aumenta. Esto entraña una contradicción con los efectos producidos por la clonidina y el propranolol ya que ambos fármacos disminuyen el sueño MOR, aparentemente disminuyendo la actividad de la NE. Sin embargo, se ha sugerido que la clonidina se une a un subtipo de receptores alfa-2 (Hilakivi y cols, 1983) postsinápticos mimetizando los efectos de la NE. Adicionalmente, son los receptores alfa los que se han relacionado al sueño MOR. De esta manera, el efecto bloqueador del propranolol sobre el sueño MOR puede explicarse porque la NE solo estaría estimulando a los alfa ya que los beta estarían bloqueados por el fármaco. En ambos casos, los fármacos estarían facilitando la acción de la NE por lo que estarían impidiendo la aparición de sueño MOR. Esto claramente concilia con los efectos observados con los medicamentos y la teoría propuesta por Siegel.

Por otra parte, se ha demostrado que el VIP coexiste con neuronas noradrenérgicas de la corteza cerebral de ratón (Magisttreti y cols, 1984). Además, se demostró que dicha interacción actúa de manera sinergista para incrementar los niveles de AMP cíclico, a través de la potenciación de los receptores alfa-2-adrenérgicos, en la corteza cerebral de cerdo y

en núcleos discretos de el hipotálamo de rata (Schaad y cols, 1987). Asimismo, se ha visto que el VIP y la NE interactúan de manera sinérgica para disminuir la actividad espontánea de neuronas de la neocorteza de la rata.

Los resultados muestran que la clonidina reduce el sueño MOR y la vigilia a expensas de un incremento en el SOL I y II y bloquea el efecto del VIP. En gatos pretratados con PCPA la clonidina no modifica el insomnio; pero el VIP reduce la vigilia e incrementa el SOL I y II, aunque no incrementa el sueño MOR e incluso lo reduce aún más. Estos resultados sugieren que la reducción de 5-HT impide la aparición de sueño y que tal efecto puede ser facilitado por la clonidina tal vez interactuando con receptores alfa-2-postsinápticos. En estas condiciones, es posible que el VIP no pueda inducir sueño MOR. A pesar de que, como hemos descrito, el VIP tiene efectos sinérgicos con la NE es posible que no sean tan importantes cuando ocurre el sueño MOR en condiciones fisiológicas, ya que la NE endógena está disminuida. No así en el caso de la Ach, la cuál está aumentada en este período. Sin embargo, si la clonidina facilita la actividad de la NE, el efecto sinérgico del VIP llegaría a ser importante por lo que incluso podría disminuir más la posibilidad de que se presente el sueño MOR.

INTERACCION DE 5-HT Y DEL VIP PARA EL CONTROL DE SUEÑO MOR

La 5-HT ha sido propuesta como moduladora del ciclo sueño-vigilia (Jouvet, 1972). Trabajos hechos con PCPA demuestran que depleta casi un 90% de la 5-HT cerebral total, lo que se acompaña de insomnio en el gato y en la rata (Koe y Weissman, 1963), asimismo la administración de precursores inmediatos para la

síntesis de 5-HT restituyen el sueño. Estas evidencias, apoyan la participación de la 5-HT para la producción de sueño. Sin embargo, actualmente existen trabajos contradictorios, por lo que la 5-HT ha sido propuesta como una sustancia moduladora de sueño a través de propiciar la síntesis, almacenamiento y liberación de un factor inductor de sueño (Sallanon y cols, 1985). Evidencias obtenidas en preparaciones de hipotálamo in vitro han demostrado que la 5-HT facilita la liberación de VIP (Shimatsu y cols, 1983). No solamente eso, sino que la 5-HT es capaz de cambiar de fase diversos ciclos circádicos cuando se administra de manera exógena (Eskin y cols, 1984), tal efecto es bloqueado por la anisomicina, - fármaco inhibidor de la síntesis de proteínas (Takahashi y cols, 1987). Esta hipótesis también es apoyada por nuestros resultados, ya que el VIP modifica el insomnio producido por la PCPA, incrementando el SOL y el sueño MOR. Ello sugiere que la administración exógena de VIP, aporta la sustancia inductora de sueño que depende de 5-HT. Esta maniobra experimental aparentemente permite evitar el paso metabólico regulado por la 5-HT para inducir sueño MOR. Con estas evidencias, se apoya la posibilidad de que la 5-HT facilite la síntesis y/o liberación de neuropéptidos con propiedades hipnóticas (entre ellos el VIP) para la producción de sueño. Adicionalmente, parece ser que esta interacción depende de la acción de otros neurotransmisores para la producción de sueño. De esta forma, encontramos que la inhibición adicional de la Ach facilita la aparición de sueño MOR y la disminución de NE por el contrario reduce la cantidad de sueño MOR.

INTERACCION DEL VIP CON OTROS NEUROPEPTIDOS Y PROTEINAS CEREBRALES PARA EL CONTROL DE SUEÑO MOR

Se ha sugerido que, además de los neurotransmisores, las proteínas participan en la generación de sueño MOR (Drucker-Colin y cols, 1975). Asimismo, se demostró que esta fase de sueño es abolida por la administración de inhibidores de la síntesis de proteínas (Rojas-Ramirez y cols, 1977) tales como el CAP, el cual también, impide el rebote de sueño MOR de gatos privados de sueño por medios instrumentales (Petitjean y cols, 1985). Ello sugiere, que las proteínas son necesarias para disparar el sueño MOR.

El efecto producido por el CAP sobre el sueño MOR, es reproducido en nuestros resultados. Por otra parte, la administración de VIP no restituyó la fase, lo que sugiere, que para que el VIP tenga efecto es necesaria la participación de otro tipo de proteínas. Posiblemente, el CAP afecta la síntesis de otros neuropéptidos importantes para la modulación de sueño MOR, tales como la CCK y que debido a la baja en los niveles de proteínas y de neuropéptidos sinergistas para inducir esta fase, la administración de VIP a dosis de 200 ng no sea suficiente para producir sueño MOR.

CONCLUSIONES

En resumen, podemos decir que los efectos del VIP son mediados por una interacción con diversos sistemas de

neurotransmisores, particularmente con la Ach, la cuál a su vez, es parte de un balance que se mantiene con la 5-HT y la NE , para la inducción de sueño MOR. Aparentemente, la 5-HT sí participa en la síntesis y/o liberación de una o varias sustancias inductoras de sueño, una de las cuáles puede ser el VIP.

Por otro lado, la inducción de sueño MOR por atropina en los gatos pretratados con PCPA, sugiere la existencia del balance mencionado para estos neurotransmisores.

La participación de la NE es menos clara, por lo que se sugieren más experimentos para esclarecer su papel.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFIA

1. Adrien, J., and Dugovic, C. Presence of paradoxical sleep (PS) factor in the cerebrospinal fluid of PS-deprived rats. Europ. J. Pharmacology, 100: 223-226, 1984.
2. Agren, H., Koulu, M., Saavedra, J. M., Potter, W. Z., and Linnoila, M. Circadian covariation of norepinephrine and serotonin in the Locus Coeruleus and dorsal Raphe nucleus in the rat. Brain Res. 397: 353-358, 1986.
3. Allison, T., and Cichetti, D. Sleep in mammals: Ecological and constitutional correlates. Science, 194: 732-734, 1976.
4. Aserinsky, J., and Kleitman, N. Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. Science, 118: 273-274, 1953.
5. Ayala-Guerrero, F. Filogenia del sueno. Bol. Estud. Med. Biol. Mex. (Suplemento) 32: 67-83, 1983.
6. Baghdoyan, H. A., McCarley, R. W., and Hobson, J. A. Cholinergic manipulation of brain stem reticular systems: effects on desynchronized sleep generation. En: A. Nauquier (Ed.), Sleep: neurotransmitters and neuromodulators, Rascu Press, New York, 1985, pp. 15-27.
7. Baghdoyan, H. A., Monaco, A., Rodrigo-Angulo, M. L., Assen, J. F., McCarley, R. W., and Hobson, J. A. Microinjections of neostigmine into the pontine reticular formation of cats enhances desynchronized sleep signs. J. Pharmacol. Exp. Ther. 231: 173-180, 1984.
8. Baghdoyan, H. A., Rodrigo-Angulo, M. L., McCarley, R. W., and Hobson, J. A. Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. Brain Res. 306: 39-50, 1984.
9. Brailowsky, S., Prospero-Garcia, O., Salas-Dominguez, J., and Alvarez-Rueda, M. Identical twin studies indicate genetic influence of human sleep patterns. Submitted Brain Res. : 1988.
10. Bremer, F. Historical development on ideas on sleep. En: O. Petra-Quadens and J. D. Schaig (Eds.), Basic sleep mechanism. Academic Press, New York y Londres, 1974, pp. 3-12.
11. Celesia, G. G., and Jasper, H. H. Acetylcholine released from cerebral cortex in relation to state of activation. Neurology, 16(11): 1053-1063, 1966.

12. Dahlstrom, A., and Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol. Scand.* 62: 232, 1964.
13. Delorme, F., Froment, J. L., and Jouvet, M. Supresion du sommeil par la p-chloromethanphetsamine et p-chlorophenylalanine. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*. 160: 2347-2351, 1966.
14. Delorme, F., Jeannerod, M., and Jouvet, M. Effects remarquables de la reserpine sur l'activite EEG phasiques ponto-geniculo-occipitale. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*. 159: 900-903, 1965.
15. Drucker-Colin, R., Bernal-Pedraza, G., Fernandez-Cancino, F., and Oberberg, A. Is vasopressin an intestinal polypeptide (VIP) a sleep factor? *Peptides* 5: 837-840, 1984.
16. Drucker-Colin, R. Endogenous sleep peptides. In: D. Wheatley (Ed.), *Psychopharmacology of sleep*. Raven Press, New York, 1981. pp. 53-72.
17. Drucker-Colin, R., and Bernal-Pedraza, J. Kainic acid lesions of gigantocellular tegmental field (FTG) neurons does not abolish REM sleep. *Brain Res.* 272: 387-391, 1983.
18. Drucker-Colin, R., and Prospero-Garcia, O. Microinjection of carbachol into the pontine area is unable to modify insomnia induced by p-chlorophenylalanine (PCPA). *Brain Res.* 462: 163-166, 1988.
19. Drucker-Colin, R., Prospero-Garcia, O., Arankowsky-Sandoval, G., and Perez-Montfort, R. Gastropancreatic peptides and sensory stimuli as REM sleep factors. In: S. Inoue and A. Schneider-Helmert (Eds.), *Sleep peptides: Basic and clinical approaches*. Japan Soc. Press/Springer-Verlag, Japan-Berlin, 1988. pp. 73-94.
20. Drucker-Colin, R., Spanis, C. W., Cotman, C. W., and McGaugh, J. L. Changes in protein levels in perfusates of freely moving cats: relation to behavioral state. *Science*. 187: 963-965, 1975.
21. Drucker-Colin, R. R. Crossed perfusion of sleep inducing brain tissue substance in conscious cats. *Brain Res.* 56: 123-134, 1973.
22. Drucker-Colin, R. R., and Benitez, F. REM sleep rebound during withdrawal from chronic amphetamine administration is blocked by chloramphenicol. *Neurosci. Lett.* 6: 267-271, 1977.
23. Eskin, A., Corrent, G., Lin, Y., and McAdoo, D. J. Mechanism for shifting the phase of a circadian rhythm by serotonin: Involvement of cAMP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 79: 660-664, 1982.

24. Eskin, A., Yeung, S. J., and Klass, M. R. Requirement for protein synthesis in the regulation of a circadian rhythm by serotonin. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 7637-7641, 1984.
25. Espejel, R. M. *Administración crónica de un inhibidor de la síntesis de proteínas sobre el ciclo sueno-vigilia del gato. Tesis de Lic., UNAM, Fac. de Ciencias, 1980.*
26. Flenc, V., Kosky, G., and Pappenheimer, J. R. Factors in cerebrospinal fluid from goats that affect sleep and activity in rats. *J. Physiol. (Lond)*, 216: 565-589, 1971.
27. Gadea-Doria, M., Stadler, H., Lloyd, K., and Bartholini, G. Acetylcholine release within the cat striatum during the sleep-wakefulness cycle. *Nature*, 243: 518-519, 1973.
28. Gaillard, J. M. Biochemical pharmacology of paradoxical sleep. *Br. J. Clin. Pharmacology*, 16: 2055-2305, 1983.
29. Henriksen, S., Gonda, W., Cohen, H., Barchas, J., and Dement, W. The effect of monoamine oxidase inhibitor (pargyline) on the central monoamine levels and sleep in the PCPA cat. *Psychophysiol*, 7: 321-325, 1971.
30. Hernandez-Peon, R., and Chavez-Ibarra, G. Sleep induced by electrical or chemical stimulation of the forebrain. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 24: 188-198, 1963.
31. Hernandez-Peon, R., Chavez-Ibarra, G., Morgane, J. F., and Timb-Iaria, C. Cholinergic pathways for sleep, alertness and rage in the limbic midbrain circuit. *Acta Neurol. Lat. Am.* 8: 93-96, 1962.
32. Hery, M., Barrit, M. C., Faudon, M., and Hery, F. Effect of vasoactive intestinal peptide on serotonin metabolism in the suprachiasmatic area of the rat: mechanism of action. *Peptides* 7: 183-188, 1986.
33. Hess, W. R. Das Schlafsyndrom als folge diencephalerreizung. *Heiv. Physiolog. Pharmacolog. Acta* 2: 305-344, 1944.
34. Hilekivi, I. The role of beta and alfa adrenoceptors in the regulation of the stages of the sleep-waking cycle in the cat. *Brain Res.* 277: 109-118, 1983.
35. Hobson, J. A. Electrographic correlates of behavior in the frog with special reference to sleep. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 22: 113-121, 1967.
36. Hobson, J. A. The reciprocal interaction model of sleep cycle control: Implications for PGO generation and dream amnesia. En: R. R. Drucker-Colin and J. L. McGaugh (Eds.), *Neurobiology of sleep and memory.* Academic Press, New York, 1977, pp. 159-183.

37. Hobson, J. A., Goldberg, G. M., Vivaldi, E., and Riew, D. Enhancement of desynchronized sleep signs after pontine microinjection of the muscarinic agonist bethanechol. Brain Res. 275: 127-136, 1983.
38. Honda, K., Komoda, Y., Nishida, S., Nagasaki, H., Uchizono, K., and Inoue, S. Uridine as an active component of sleep-promoting substance: its effects on the nocturnal sleep in rats. Neuroscience, 1: 243-252, 1984.
39. Inoue, S., Honda, K., and Komoda, G. Uridine as an active component of the sleep-promoting substance. In: W. P. Koella (Ed.), Sleep '84. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 1985. pp. 212-214.
40. Inoue, S., and Schneider-Helmert, D. Sleep peptides: Basic and clinical approaches, Japan Sci. Press Springer-Verlag., Japan-Berlin, 1988.
41. Jasper, H. H., and Tassier, J. Acetylcholine liberation from cerebral cortex during paradoxical (REM) sleep. Science, 172: 601-602, 1971.
42. Jones, E. B. Elimination of paradoxical sleep by lesion of the pontine gigantocellular tegmental field in the cat. Neurosci. Lett, 13: 285-293, 1979.
43. Jouvet, M. Biogenic amines and the states of sleep. Science, 163: 32-41, 1969.
44. Jouvet, M. The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep. Ergebn. Physiol. 64: 166-337, 1972.
45. Kaiser, W., and Steiner-Kaiser, J. Neuronal correlates of sleep, wakefulness and arousal in a diurnal insect. Nature, 301: 707-709, 1983.
46. Kaji, H., Chihara, K., Minamitani, N., Kodama, H., Yanaiharu, N., and Fujita, T. Release of vasoactive intestinal polypeptide into the cerebrospinal fluid of the fourth ventricle of the rat: involvement of cholinergic mechanism. Brain Res. 269: 303-310, 1983.
47. Kimura, H., McGeer, P. L., Pang, J. H., and McGeer, E. G. The central cholinergic system studied by choline acetyltransferase immunohistochemistry in the cat. J. Comp. Neurol. 200: 151-201, 1981.

48. Kimura, M., Honda, K., Komoda, Y., and Inoue, S. Interacting sleep-modulatory effects of simultaneously administered delta-sleep-inducing peptide, muramyl dipeptide and uridine in unrestrained rats. Neurosci. Res., 5: 157-166, 1987.
49. Koe, K. B., and Weissman, A. P-chlorophenylalanine, a specific depletor of brain serotonin. J. Pharmacol. Exp. Ther., 154: 499-516, 1966.
50. Koella, P. W., Feldstein, A., and Czigman, F. S. The effect of para-chlorophenylalanine on the sleep of cats. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 25: 481-490, 1968.
51. Krueger, J. M., Pappenheimer, J. R., and Karnovsky, M. L. The composition of sleep-promoting factor isolated from human urine. J. Biol. Chem., 257: 1664-1669, 1982.
52. Krueger, J. M., Shoham, S., and Davenne, D. Immune modulators as promoters of slow wave sleep. Clinical Neuropharmacology, 9, 4: 462-464, 1986.
53. Loren, I., Emson, P. C., and Fahrenkrug, J. Distribution of VIP in the rat and mouse brain. Neuroscience, 4: 1953-1976, 1979.
54. Magistretti, J. P., and Schorderet, M. VIP and noradrenaline act synergistically to increase cyclic AMP in cerebral cortex. Nature 308: 280-282, 1984.
55. McGinty, D., Harper, M. D., and Fairbanks, K. M. Neuronal unit activity and the control of sleep states. En: E. D. Weitzman (Ed.), Advances in sleep research. Spectrum, Pub., New York, 1973. pp. 173-212.
56. McGinty, D., and Lucas, E. A. Sleep in amphibians. En: M. Chase (Ed.), The sleeping brain. Brain Information Service, Los Angeles, CA, 1972. pp. 1132-1139.
57. Misbahuddin, M., Houchi, H., Nakanishi, A., Morita, K., and Oka, M. Stimulation by vasoactive intestinal polypeptide of muscarinic receptor-mediated catecholamine secretion from isolated guinea pig adrenal medullary cells. Neurosci. Lett., 72: 315-319, 1986.
58. Mo, N., and Dun, N. J. Vasoactive intestinal polypeptide facilitates muscarinic transmission in mammalian sympathetic ganglia. Neurosci. Lett., 52: 19-23, 1984.
59. Monnier, M., and Hosli, L. Dialysis of sleep and waking factors in blood of the rabbit. Science, 146: 796-798, 1964.
60. Monnier, M., Kalbere, M., and Krupp, P. Functional antagonism between diffuse reticular and intralaminary recruiting projections in the medial thalamus. Exp. Neurol., 2: 271-289, 1960.

61. Monnier, M., Koller, T., and Graber, S. Humoral influences of induced sleep and arousal upon electrical brain activity of animals with crossed circulation. Exp. Neurol. 8: 264-277., 1963.
62. Moruzzi, G., and Magoun, H. W. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 1: 455-473, 1949.
63. Mukhamstov, L. M., Supin, Y. A., and Polyakova, G. I. Interhemispheric asymmetry of the electroencephalographic sleep patterns in dolphins. Brain Res. 134: 581-584, 1977.
64. Nagasaki, H., Iriki, M., Inoue, S., and Uchizono, K. The presence of a sleep promoting material in the brain of sleep-deprived rats. Proc. Jpn. Acad. 50: 241-246., 1974.
65. Nagasaki, H., Kitahama, K., Valatx, J. L., and Jouvet, M. Sleep-promoting effect of the sleep-promoting substance (SPS) and delta sleep-inducing peptide (DSIP) in the mouse. Brain Res. 192: 276-280, 1980.
66. Nauta, W. J. H. Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. J. Neurophysiol. 9: 285-316., 1946.
67. Obal, F. J. r., Sary, G., Alfordi, P., Rubicsek, G., and Obal, F. Vasoactive intestinal polypeptide promotes sleep without effects on brain temperature in rats at night. Neurosci. Lett. 64: 236-240, 1986.
68. Obata-tsuto, H. L., Okamura, H., Tsuto, T., Terubayasi, H., Fukui, K., Yanaijara, N., and Ibata, Y. Distribution of the VIP-like immunoreactivity neurons in the cat central nervous system. Brain Res. Bull. 10: 653-660., 1983.
69. Pappenheimer, J. R., Miller, T. B., and Goodrich, C. A. Sleep promoting effects of cerebrospinal fluid from sleep deprived goats. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash). 58: 543-547., 1967.
70. Petitjean, F., Suda, D., Janin, M., David, M., and Jouvet, M. Effets du chloramphenicol sur le sommeil du chat-comparaison avec le thiamphenicol. Psychopharmacology. 66: 147-153, 1979.
71. Peyrethon, J., and Dusan-Peyrethon, D. Etude Polygraphique du cycle veille-sommeil chez trois genres de reptiles. C. R. Soc. Biol. (Paris) 163: 181-186, 1969.
72. Pieron, H. Le probleme physiologique de sommeil. :. 1913.
73. Prospero-Garcia, G., Jimenez-Anguiano, A., and Drucker-Colin, R. Chloramphenicol prevents REM sleep inducing effect of carbachol in cats. Enviado a Brain Res. :. 1989.

74. Prospero-Garcia, O., Morales, M., Arankowsky-Sandoval, G., and Drucker-Colin, R. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and cerebrospinal fluid (CSF) of sleep deprived cats restores REM sleep in insomniac recipients. Brain Res. 385: 169-173, 1986.
75. Prospero-Garcia, O., Ott, T., and Drucker-Colin, R. Cerebroventricular infusion of cholecystokinin (CCK-8) restores REM sleep in parachlorophenylalanine (PCPA) pretreated cats. Neurosci. Lett. 78: 205-210, 1987.
76. Pujol, J. F., Hery, F., Durand, M., and Glowinsky, J. Augmentation de la synthese de la serotonine dans le tronc cerebral chez le rat apres privation selective du sommeil paradoxal. C.R. Acad. Sci. (Paris), 267: 371-372, 1968.
77. Putkonen, P. T. S., Leppavuori, A., and Stenberg, D. Paradoxical sleep inhibition by central alpha-adrenoceptor stimulant clonidine antagonized by alpha-receptor blocker yohimbine. Life Sci. 21: 1059-1066, 1977.
78. Rechtschaffen, A., and Kales, A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Brain Infor. Serv/Brain Res Inst., Univ. Los Ang., CA., 1968.
79. Riou, F., Caspuglio, R., and Jouviet, M. Endogenous peptides and sleep in the rat: I peptides decreasing paradoxical sleep. Neuropeptides, 2: 243-254., 1982a.
80. Riou, F., Caspuglio, R., and Jouviet, M. Endogenous peptides and sleep in the rat: II peptides without significant effect on the sleep-waking cycle. Neuropeptides, 2: 255-264., 1982b.
81. Riou, F., Caspuglio, R., and Jouviet, M. Endogenous peptides and sleep in the rat: III the hypnogenic properties of vasoactive intestinal polypeptide. Neuropeptides, 2: 265-277., 1982c.
82. Rojas-Ramirez, J. A., and Drucker-Colin, R. Sleep induced by spinal cord cholinergic stimulation. Intern. J. Neuroscience, 5: 215-221, 1973.
83. Rojas-Ramirez, J. A., and Tauber, E. S. Paradoxical sleep in two species of avian predators (Falconiformes). Science, 167: 1754-1755, 1970.
84. Rostene, W. H. Neurobiological and neuroendocrine functions of the vasoactive intestinal peptide (VIP). Prog. Neurobiol. 103: 103-129, 1984.

85. Sallanon, M., Buda, C., Janin, M., and Jouvet, M. Restoration of paradoxical sleep by cerebrospinal fluid transfer to PCPA pretreated insomniac cats. Brain Res. 251: 137-147.,1982.
86. Sallanon, M., Buda, C., Janin, M., and Jouvet, M. Implication of serotonin in sleep mechanisms: induction, facilitation ? En: A. Wauquier (Ed.), Sleep: neurotransmitters and neuromodulators. Raven Press., Nueva York.,1985. pp. 135-140.
87. Schaad, C. N., Schorderet, M., and Magistretti, J. F. Prostaglandins and the synergism between VIP and noradrenaline in the cerebral cortex. Nature 328: 637-640.,1987.
88. Schnedorf, G. J., and Ivy, A. C. An examination of the hypnotoin theory of sleep. Am. J. Physiol. 125: 191-205.,1939.
89. Schoenenberger, A. F., and Monnier, M. Characterization of delta-electroencephalogram (sleep) inducing-peptide. Proc. Natl. Acad. Sci. 74: 1282-1286.,1977.
90. Schoenenberger, F. A., Cuemi, L. B., Monnier, M., and Hatt, A. M. Humoral transmission of sleep. VII Isolation and physicochemical characterization of the "sleep inducing factor delta". Pfluegers Arch. 338: 1-17.1972.
91. Serafenitides, E. A., Shurley, J. T., and Brooks, R. E. Electroencephalogram of the pilot whale, *Globicephala scammoni* in wakefulness and sleep: Lateralization aspects. Int. J. Psychobiol. 2: 129-135,1972.
92. Shiromani, J. P., Armstrong, M. D., Bruce, G., Hers, B. L., Groves, M. J., and Gillin, J. C. Relation of pontine choline acetyltransferase immunoreactive neurons with cells which increase discharge during REM sleep. Brain Res. Bull. 18: 447-455.,1987.
93. Shute, C. C. D., and Lewis, P. R. The ascending cholinergic reticular system: neocortical, olfactory and subcortical projections. Brain. 196: 497-520.,1967.
94. Spanis, W. C., Gutierrez, M. C., and Drucker-Colin, R. R. Neurohumoral correlates of sleep: further biochemical and physiological characterization of sleep perfusates. Pharmacol. Biochem. Behav. 5: 165-173.,1976.
95. Stern, W. C., Jalowiac, E., Shobshalowitz, H., and Morgane, P. J. Effects of growth hormone on sleep-waking patterns in cat. Horm. Behav. 6: 189-196.,1975.
96. Stern, W. C., Morgane, P. J., Parksepp, J., Salovick, A. J., and Lalowiac, J. E. Elevation of REM sleep following inhibition of protein synthesis. Brain Res. 47: 254-258,1972.