



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y
DE POSGRADO DEL COLEGIO DE CIENCIAS
Y HUMANIDADES.

PARTICIPACION DE LA FORMACION RETICULAR PONTINA EN EL AUMENTO DEL SUEÑO MOR INDUCIDO POR ESTIMULACION SENSORIAL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE;
Doctora en Investigación Biomedica Básica
Area Neurociencias

P R E S E N T A :
GLORIA MARGARITA ARANKOWSKY SANDOVAL

Director de Tesis: Dr. René Drucker Colín

TESIS CON
FALLA LE ORIGEN

Primavera de 1990



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

-	Resumen	
-	Abreviaturas	
-	Introducción	1
-	El tallo cerebral y la generación del sueño MOR	6
-	Mecanismos colinérgicos del sueño MOR	17
-	Actividad de las vías sensoriales durante el sueño	24
-	El sueño como un fenómeno plástico.	26
-	Hipótesis y objetivo	33
-	Material y Métodos	
	a) Protocolo 1	34
	b) Protocolo 2	37
-	Resultados	
	a) Protocolo 1	41
	b) Protocolo 2	47
-	Resumen de los resultados	66
-	Discusión	67
-	Consideraciones acerca de los mecanismos generadores del sueño MOR:	76
	Acetilcolina y excitabilidad cerebral	
-	Bibliografía	80

RESUMEN

La estimulación auditiva y somática durante el transcurso del sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) incrementa la duración de dicha fase de sueño, así como la densidad de espigas Ponto-Genículo-Occipitales (PGO), en el gato.

El objetivo de este trabajo fué determinar si el aumento en la duración del sueño MOR inducido por estimulación sensorial está mediado a través de la formación reticular pontina (FRP). Para ello se utilizaron 2 diseños experimentales: el primero consistió en producir lesiones en la FRP con ácido kainico, para determinar si la estimulación sensorial es capaz de seguir aumentando el sueño MOR, a pesar de la disminución en el número de neuronas de la FRP. En el siguiente, se estudió la actividad unitaria de las células de la FRP, con la finalidad de conocer si la estimulación sensorial produce cambios en los niveles de excitabilidad de dichas células, que pudieran explicar el aumento del sueño MOR.

Los resultados mostraron que la lesión de la FRP impide el incremento del sueño MOR debido a estimulación sensorial, aunque se siguió observando el aumento en la densidad de espigas PGO. Estos efectos permanecieron sin cambio aún 45 días después de efectuarse las lesiones. Asimismo, se encontró que la estimulación auditiva durante el sueño MOR, tuvo la capacidad de modificar la frecuencia de disparo del 44% de las células estudiadas. En conjunto, estos resultados sugieren que la estimulación sensorial actúa a través de la FRP, produciendo un aumento en los niveles de excitabilidad de dicha estructura, lo cual se manifiesta en un aumento concomitante del sueño MOR.

ABREVIATURAS

BC	-	Brachium Conjunctivum
CTG	-	Campo Tegmental Gigantocelular
FRP	-	Formación Reticular Pontina
LC	-	Locus caeruleus
LC ₁	-	Locus caeruleus alfa
MC	-	Magma celularis
MOR	-	Movimientos oculares rápidos
NDR	-	Núcleo dorsal del Rafe
PEPS	-	Potencial excitatorio post-sináptico
PGO	-	Ponto geniculo-occipital
PLC	-	Peri locus caeruleus -
PPN	-	Núcleos pedúnculo pontinos
RPC	-	Reticularis pontis caudalis
RPO	-	Reticularis pontis oralis
SC	-	Subcaeruleus
Th	-	Tirosina hidroxilasa
TPdL	-	Tegmento pontino dorsolateral

INTRODUCCION

Sueño:

"Estado fisiológico-psicológico caracterizado, en lo fisiológico por la pérdida de la conciencia, la abolición de la motricidad y la disminución de la vida orgánica. En lo psicológico, el sueño se manifiesta por una combinación de imágenes, aparentemente sin sentido, que los psicoanalistas tratan de interpretar con fines terapéuticos" (Diccionario Enciclopédico Básico, 1971).

Esta definición podría parecer, para el neófito, lo suficientemente descriptiva como para explicar un evento que forma parte de su vida cotidiana. Sin embargo, después de 50 años de estudio sistemático del sueño, éste puede ser descrito, en la actualidad, tomando en consideración la múltiple fenomenología que lo caracteriza.

El sueño es un fenómeno biológico que se presenta circádicamente, es decir, aproximadamente cada 24 horas. Sin embargo, la cantidad de sueño y su distribución a lo largo de ese tiempo puede variar para cada especie. Así por ejemplo, el hombre adulto tiene un ciclo bifásico bien definido, presentando vigilia durante el día y durmiendo durante la noche. Algunos animales, como el gato y el perro son policíclicos, alternando la vigilia con períodos de sueño durante el período circádico. El sueño, a su vez, está constituido por la sucesión de diferentes fases que se repiten cíclicamente (ciclo ultradiano), durando en el hombre 90 minutos y en el gato 27 min (Hartmann, 1968; Sterman y col., 1965).

Dichas fases son el sueño de ondas lentas (SL) y el sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR). cada una caracterizada por distintos cambios funcionales, a nivel motor, sensorial y autónomo, así como en las señales eléctricas de estructuras nerviosas (Fig. 1).

Características del ciclo vigilia-sueño en el gato

(Jouvet, 1962; Sterman y col., 1965):

Vigilia activa

La cabeza del animal se encuentra levantada. las pupilas presentan midriasis y las membranas nictitantes se retraen. El registro del electromiograma denota una gran actividad muscular, mientras que la actividad cortical y subcortical es de bajo voltaje, inferior a 50 microvolts (μV) y rápida de 20 a 30 ciclos por segundo (cps).

Vigilia tranquila

Los ojos del animal se encuentran parcialmente cerrados, las membranas nictitantes se relajan de 2 a 3 mm y la actividad muscular es todavía notoria. Los ritmos cardíaco y respiratorio disminuyen ligeramente en comparación a la vigilia alerta. La actividad electroencefalográfica muestra una actividad regular de 5 a 8 cps.

Sueño lento:

Conductualmente se observa que el animal recuesta la cabeza

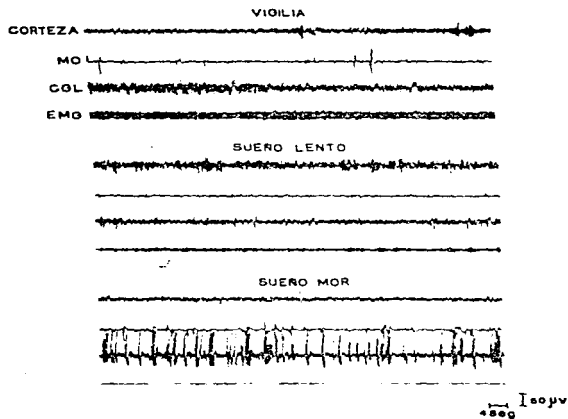


FIG. 1. Características polisomnográficas del ciclo vigilia-sueño en el gato (ver descripción en el texto).
 MO, Movimientos oculares.
 COL, Cuerpo geniculado lateral.
 EMG, Electromiograma.

adoptando una posición típica de sueño, tendido sobre el vientre. Los ojos permanecen cerrados y las membranas nictitantes se encuentran totalmente relajadas. La actividad electromiográfica disminuye, pero no llega a desaparecer. La frecuencia cardíaca disminuye, lo mismo que el ritmo respiratorio que se hace más amplio y regular. Conjuntamente, en la actividad electroencefalográfica aparecen husos de 8 a 16 cps que predominan a nivel de la formación reticular mesencefálica. Asociadas a estos husos se observan las ondas lentas, de 2 a 4 cps y de 150 a 250 μ V.

Sueño MOR

La aparición de movimientos oculares rápidos que pueden ser laterales, verticales y oblicuos, originan el nombre de esta fase de sueño. Desde el punto de vista electroencefalográfico, el sueño MOR está caracterizado por una actividad cortical, diencefálica y mesencefálica rápida, de 20 a 30 cps, y de bajo voltaje, de 20 a 30 μ V, muy parecido al de la vigilia. Durante esta fase de sueño se presenta atonía muscular, que se ve brevemente interrumpida por movimientos de las extremidades, vibrisas y orejas. La temperatura rectal disminuye con respecto a la registrada durante el sueño lento, observándose asimismo un aumento en la variabilidad de los signos cardiorespiratorios. Un aumento del flujo sanguíneo así como de la temperatura cerebral, también son características del MOR.

En general, la duración media del sueño MOR en el gato es de 6 a 7 minutos, con una aparición cíclica cada 27 min aproximadamente.

Dentro de los parámetros que caracterizan al sueño MOR, se distinguen los potenciales fásicos que se registran en el puente (Jouvet y col., 1959), los cuerpos geniculados laterales (Mikiten y col., 1961) y la corteza occipital (Brooks y Bizzi, 1963). Debido a su localización anatómica se han denominado espigas ponto-genículo-occipitales (PGO). Asimismo, recientemente se ha encontrado que la actividad PGO se propaga a estructuras del sistema límbico como la amígdala y el hipocampo (Calvo y col., 1984). Ya que existe una correlación entre las PGO y los movimientos oculares, se ha sugerido que estas espigas están relacionadas con mecanismos de integración oculomotora (Jeannerod, 1972).

Las espigas PGO se presentan con una frecuencia de alrededor de 50/minuto durante el SMOR (Thomas y col., 1967) y el número total registrado en un día es de 14.100 ± 2700 (Duysan - Peyrethon y col., 1967).

En la actualidad se conocen al menos 2 estructuras (una de ellas inhibitoria), que participan en la generación de las espigas PGO. Estos son los núcleos dorsales del rafe (NDR) que contienen serotonina y las neuronas colinérgicas del tegmento pontino dorso-lateral (TPdL). Así, se ha observado que la interferencia con la transmisión serotoninérgica mediante reserpina o paraclorofenilalanina, induce la ocurrencia continua de espigas PGO en vigilia (Jouvet, 1972; Stern y col., 1972); encontrándose un efecto similar después de la lesión de los NDR (Simon y col., 1973). Por el contrario, la estimulación de dichos núcleos suprime por completo las espigas PGO durante el

sueño MOR (Dement y col., 1972).

Por otra parte, se ha demostrado que las neuronas del TPdL envían aferentes a los cuerpos geniculados, y su actividad unitaria está íntimamente relacionada con las espigas PGO (Sakai, 1980; Saito y col., 1977).

Por lo tanto, se ha sugerido que las neuronas serotoninérgicas del rafe, ejercen una influencia inhibitoria sobre un marcapaso colinérgico en el puente, y que la liberación de dicha influencia permiten la manifestación de espigas PGO durante el sueño MOR (Sakai, 1980).

El tallo cerebral y la generación del sueño MOR

A partir de los años 50, cuando se descubrió el sueño MOR (Aserinsky y Kleitman, 1953), se tuvieron que implementar nuevas estrategias metodológicas, con la finalidad de elucidar los mecanismos neurofisiológicos responsables de dicha fase del sueño. Desde entonces, las técnicas de lesión, estimulación eléctrica y química, así como el registro de actividad unitaria han sido empleadas como herramientas para llegar a comprender los mecanismos subyacentes al sueño. Jouvet (1962) y posteriormente Villablanca (1966) utilizaron la técnica de ablación de porciones del sistema nervioso central para delimitar las estructuras que participan en la producción del sueño MOR. Así, realizaron decorticaciones, cerebelectomías, lesiones del tálamo y secciones del tallo cerebral a distintos niveles. Con esta última preparación, encontraron que tanto las secciones mesodiencefálicas como pontomesencefálicas no impiden la presentación del sueño MOR. Sin embargo, cuando se realizaron

secciones a nivel bulbopontino, a nivel de las dos terceras partes posteriores del núcleo reticularis pontis caudalis (RPC), se suprimió esta fase del sueño. De estos experimentos se dedujo que los grupos neuronales involucrados en la generación del sueño MOR se hallaban en el puente. Este descubrimiento, de suma importancia para la comprensión del sueño, despertó el interés en las estructuras específicas que se encuentran en la región determinada como indispensable mediante la técnica de transectos. En primer término, la lesión por coagulación de los núcleos reticularis pontis oralis (RPO) y caudalis suprimía todas las manifestaciones del SMOR.

Cabe mencionar que las regiones mencionadas como RPO y RPC y que fueron lesionadas por Jouvét, no solo comprenden la formación reticular, sino que abarcaron prácticamente todo el tegmento dorsal pontino eliminándose también los núcleos del rafe, el complejo coeruleus, el núcleo de Gudden, etc. Asimismo, la estimulación eléctrica de los mismos núcleos es capaz de inducir sueño MOR cuya fenomenología es idéntica a los períodos que se presentan espontáneamente (Jouvét y col., 1960; Rossi y col., 1961). Monti (1970) ha corroborado estos estudios, encontrando que la estimulación de la formación reticular pontina (FRP) a niveles rostrales, induce un incremento significativo en el número de períodos MOR así como del tiempo total de dicha fase de sueño.

Estudios más finos, en los que se hicieron lesiones más pequeñas y delimitadas sugirieron que el locus coeruleus (LC) y subcoeruleus (SC). (el SC en la actualidad se ha subdividido en 2 regiones: LC- y peri LC-) podría ser la zona generadora del

sueño MOR (Jouvet, 1972). Se encontró que las lesiones caudales del locus coeruleus suprimían sólo la atonía muscular durante el MOR, mientras que aquellas que involucraban tanto al LC como al SC, abolían permanentemente al SMOR sin afectar las PGOs. Ya que en ese tiempo se determinó que esas células eran noradrenérgicas, se consideró a este neurotransmisor como el más importante en la generación del SMOR. Sin embargo, resultados contradictorios fueron obtenidos por Carli y Zanchetti (1965) quienes concluyeron que la lesión del locus coeruleus no abolía el SMOR. Asimismo, la disminución de norepinefrina y la destrucción selectiva de células noradrenérgicas con 6 hidroxidopamina no afectan al SMOR (Jones y col., 1976).

En su conjunto, estos resultados fueron considerados como pruebas de que la región pontina es indispensable para la producción del sueño MOR. Sin embargo, el hecho de que tanto las lesiones como la estimulación cerebral podrían producir efectos inespecíficos actuando sobre fibras provenientes de cualquier parte, condujo a estudios más detallados, como el registro de actividad unitaria de la formación reticular. Sin embargo, los primeros registros, en relación al ciclo vigilia-sueño fueron realizados en el animal curarizado, anestesiado o con restricción de movimiento de la cabeza (Mollica y col. 1953, Machne y col., 1955 y Hobson y col., 1974), dando como resultado información contradictoria.

Fue Huttenlocher (1960) quien realizó el primer estudio de actividad unitaria de la formación reticular mesencefálica durante el ciclo vigilia-sueño en el animal en libre movimiento.

Su objetivo fué estudiar los patrones de disparo espontáneos y la capacidad de responder a estimulación auditiva durante las diferentes fases de sueño. En resumen encontró lo siguiente:

- a) La mayoría de las células mostraron más actividad espontánea durante el sueño de ondas lentas que durante la vigilia de relajación.
- b) Un grupo de células en la porción ventral de la formación reticular mesencefálica mostró un patrón de disparo rápido y continuo durante la vigilia con movimiento, el cual disminuyó considerablemente durante el sueño lento.

Durante el sueño MOR, estas células dispararon con ráfagas de descarga muy rápida, incluso con mayor frecuencia que durante la vigilia. Por otra parte, las respuestas sensoriales dependieron del estado de vigilancia en el que se encontraba el animal. En la mayoría de las unidades, la actividad provocada fué más marcada durante la vigilia de relajación, disminuyendo en algunas células durante el sueño de ondas lentas. La capacidad de respuesta durante el sueño MOR se vió disminuída en todas las células examinadas y ausente en algunas células.

Con base en los trabajos de Jouvet (1962), en los cuales se implicaba a la FRP* en el control del sueño MOR, McCarley y Hobson (1971), decidieron buscar en dicha estructura un área neuronal que se activara específicamente durante el SMOR. Ya que el campo tegmental gigante celular (CTG) correspondía a los núcleos reticularis pontis oralis y caudalis, estudiaron su actividad unitaria en el animal con la cabeza inmovilizada. En

* Los términos FRP y CTG serán considerados como sinónimos.

este trabajo encontraron que la frecuencia de disparo de las células del CTG aumentaba significativamente durante el sueño MOR, en comparación a la vigilia y al sueño lento, por lo que fue considerado como el posible "centro" generador de dicha fase de sueño.

Posteriormente, en un estudio más amplio (Hobson y col., 1974a) se comparó la frecuencia de descarga de distintos núcleos del tallo cerebral, incluyendo al CTG, durante el ciclo vigilia-sueño. En esta ocasión, encontraron que todos los núcleos estudiados aumentaron su frecuencia de disparo durante el SMOR, pero esta siempre fué mayor en el CTG.

Estos antecedentes dieron origen al "modelo de interacción recíproca" para la producción del sueño MOR (Hobson, 1974b) en el cual se propone al CTG como el "centro" generador del SMOR. Para ello definieron una serie de criterios que una estructura nerviosa debe cumplir para ser considerada como tal, y que según su punto de vista el CTG cumple: a) ser un grupo homogéneo de neuronas, estratégicamente localizado y conectado; b) selectivamente activado durante la conducta en estudio; c) su estimulación debe producir aumento en la incidencia y duración del evento, y por el contrario, d) las lesiones del "centro" deben producir una disminución en su incidencia y duración, o su total desaparición.

Asimismo, ya que también se había observado que dos grupos neuronales del tallo cerebral, el locus coeruleus y el rafe dorsal se inactivan durante el SMOR (McGinty y col., 1972), el modelo asume que el CTG se activa por la inhibición de dichas estructuras. En otras palabras, al CTG se le considera como

autoexcitable y excitatorio al LC y RD; estos núcleos serían inhibitorios al CTG y a sí mismos, de aquí la "interacción recíproca".

Sin embargo, a pesar del aparente éxito de esta hipótesis, experimentos realizados posteriormente demostraron que la activación del CTG no es selectiva para el sueño MOR (Siegel y cols. (1977a)). Esto pudo determinarse debido a que se estudió la actividad unitaria del CTG en el animal en libre movimiento, encontrándose que estas células disparan también durante la vigilia en relación a actividades motoras específicas.

Además, ya que algunos trabajos habían mostrado que las neuronas del CTG son polisensoriales (Siegel y cols. (1977a)), decidieron estudiar su capacidad de respuesta a estímulos auditivos, vestibulares y somáticos en el gato normal en libre movimiento. En este sentido, encontraron que las respuestas sensoriales fueron similares a las que se habían observado previamente en preparaciones con anestesia, decerebración o parálisis. Es decir, fueron respuestas breves que consistían en 1 o 2 espigas y que aparecieron con una latencia entre 15 y 33 milisegundos. Sin embargo, a pesar de las respuestas sensoriales, la actividad de estas células fue mayor cuando el animal realizaba movimientos que incluyeron la cabeza, el cuello y las patas.

Como conclusión, los autores demuestran que la activación del CTG no es específica para el sueño MOR, por lo cual no se le podía seguir considerando como el "centro" productor de dicha fase de sueño.

Posteriormente (Siegel y col. 1977b) se reportaron 3 tipos celulares dentro del CTG, de acuerdo a su frecuencia de disparo. Las células tipo I dispara únicamente durante el movimiento y no presenta actividad espontánea en ningún otro estado. Las neuronas tipo 2 presentan niveles relativamente altos de actividad tónica durante la vigilia de quietud, sueño lento y MOR. Estas células disparan con una frecuencia que excede las 4 espigas por segundo y muestran un pequeño aumento en su frecuencia de descarga durante la transición del sueño lento al MOR. Las células del tipo 3, tienen bajo nivel de descarga espontánea en vigilia de quietud y sueño lento (menos de 4 espigas/seg.), mientras que su actividad aumenta durante el SMOR. Todas las células que estuvieron activas durante el SMOR también lo estuvieron durante el movimiento. Para clarificar estos resultados contradictorios, surgió la idea de lesionar el CTG con ácido kaínico (AK), neurotóxico que destruye exclusivamente los cuerpos neuronales, respetando las fibras de paso, y observar sus efectos sobre el sueño MOR. Estos efectos fueron comparados con los producidos por lesiones electrolíticas (Sastre y col., 1981). Los resultados demostraron que la lesión electrolítica del CTG produjo una supresión total del SMOR durante 5 semanas, en contraste con la ausencia de efecto después de la total destrucción de los somas con ácido kaínico. La presentación del sueño MOR de manera normal a pesar de la ausencia de cuerpos celulares en el CTG, fué considerada como evidencia de que ese núcleo no es parte fundamental de los mecanismos de dicha fase de sueño. En cambio, las lesiones electrolíticas pueden afectar al sueño MOR, por interrupción de fibras que cursan por el área de

lesión.

A pesar de esto, existen experimentos realizados con registros intracelulares que sugieren la participación del CTG en los mecanismos de sueño MOR.

Ito y McCarley (1984) midieron cambios de excitabilidad y niveles de polarización espontáneos de la membrana de las células del CTG durante el ciclo vigilia-sueño. Consideraron la excitabilidad como la proporción de potenciales excitatorios postsinápticos (PEPS) provocados por la estimulación del CTG contralateral o la formación reticular bulbar, que dieron origen a potenciales de acción.

Se encontró que todas las neuronas registradas redujeron progresivamente el potencial de membrana conforme el animal pasaba del sueño lento a SMOR. Esta depolarización estuvo caracterizada por descargas de PEPS asociadas con potenciales de acción. Asimismo, durante esta fase de sueño, la proporción de PEPS provocados que generaban potenciales de acción fue mayor durante el SMOR que durante el sueño lento o la vigilia. Durante esta última, se observaron depolarizaciones fásicas de la membrana en algunas células, en asociación temporal con la ocurrencia de eventos conductuales específicos. Por lo tanto, sugieren que durante el SMOR hay una tendencia tónica hacia la excitabilidad de todo el grupo neuronal. Este aumento en excitabilidad puede originar algunos eventos del MOR (McCarley e Ito, 1985).

Dicha idea encuentra apoyo en el hecho de que la disminución en la frecuencia de disparo del CTG, inducida por cloranfenicol,

produce un gran aumento en el número de períodos MOR abortivos (Drucker y col., 1982).

Como ya fue revisado, varios núcleos del tegmento pontino y mesencefálico, además del CTG, aumentan su frecuencia de disparo poco antes del SMOR y durante su duración. A estos tipos celulares se les denominó "REM on" (Hobson y col., 1974a). Paralelamente, se descubrió que las células del locus coeruleus (Chu y Bloom, 1972) y del rafe (McGinty y Harper, 1974) dejan de disparar durante esa fase de sueño y se les denominó "REM off".

Más recientemente (Saito y col., 1977) reporta la presencia de ambos tipos celulares en el tegmento pontino dorso-lateral. Se encontró que algunas de las células "on" estuvieron correlacionadas con la presentación de PGOs, mientras que otras estuvieron relacionadas con actividad motora o estímulos sensoriales durante la vigilia. Las células "off", mostraron una actividad tónica lenta durante la vigilia y el sueño lento, y no se vieron afectadas por actividad motora o estímulos externos. En este trabajo se sugiere de manera similar al modelo de Hobson (1974), que la inhibición de las células "off" permite a las células "on" generar PGOs. Posteriormente, Sakai y Jouvet (1980a) encuentran que este tipo de células "PGO on" también se encuentran en el núcleo laterodorsalis tegmenti y las porciones rostrales del LC, las cuales tienen conexiones al cuerpo geniculado lateral. Por otra parte, las neuronas "on" del peri LC que envían proyecciones al magnocelularis (MC) en el bulbo han sido propuestas como generadoras de la atonía durante el sueño MOR (Sakai, 1980b). Asimismo, se han reportado células "on" en el bulbo (Kanamori y col., 1980).

En una revisión reciente Sakai, (1988c), menciona que, aunque en un sentido estricto, las células "on" son aquellas que muestran una descarga selectiva y tónica justo antes y a través del sueño MOR, la mayoría de ellas muestran actividad de baja frecuencia durante el sueño lento. Asimismo, considera células "on" a un subgrupo de células del bulbo que durante la vigilia activa presentan descargas fásicas de corta duración. Sin embargo, considera que cumplen los criterios básicos para generar y mantener al sueño MOR:

- 1) Total supresión de descarga durante la vigilia de quietud.
- 2) Un aumento significativo en frecuencias de disparo antes de la instalación del SMOR.
- 3) Descarga sostenida durante el periodo.
- 4) Completa disminución de actividad durante la transición del SMOR a la vigilia.

Este tipo de células se registran en el tegmento pontino mediodorsal y en la formación reticular bulbar lateral y ventromedial. Al nivel del puente, la mayoría de las células están localizadas en la región rostral del complejo coerulus. Al nivel bulbar en el núcleo reticular magnocelular y el rafe magnus.

Las células bulbares disparan de 2 a 3 veces más que las células "REM on" pontinas. Con la técnica de invasión antidrómica, se ha encontrado que la mayoría de las "REM on" pontinas tienen proyecciones directas al núcleo magnocelularis y muy pocas proyectan directamente a estructuras talámicas.

Por el contrario, algunas células del núcleo magnocelularis envían

proyecciones a la médula espinal y otras al peri LC-

Obsérvese que esta descripción de las células "on", llamadas productoras del MOR, corresponde a las mismas descritas con anterioridad como responsables de producción de PGOs unas, y atonía, otras (Saito y col., 1977, Sakai y col., 1980 a, Sakai, 1980 b, Kanamori y col., 1980), y que los criterios de selectividad son muy parecidos a los de Hobson y col. (1974).

MECANISMOS COLINÉRGICOS DEL SUEÑO MOR

Dentro de los posibles neurotransmisores involucrados en la generación del SMOR, la acetilcolina ha sido considerada como uno de los mejores candidatos. A partir de los años 60, con los trabajos de Hernández-Peón y col. (1963) y Jouvét (1962) se obtuvieron las primeras evidencias que sugirieron la participación colinérgica en mecanismos de sueño. Así, el primero observó que la aplicación de cristales de acetilcolina en varios puntos del sistema límbico y del tegmento mesencefálico producían somnolencia y sueño lento con una latencia de 1-4 minutos. Por otra parte, Jouvét encontró que la administración sistémica de atropina en el gato (1-3 mg/kg de peso) suprime el SMOR, efecto que también producen las inyecciones intraventriculares de hemicholinium - 3 (Domino y col., 1971), siendo ambos fármacos antagonistas de la función de la acetilcolina.

En trabajos más recientes se ha encontrado que las microinyecciones de carbacol (agonista mixto de acetilcolina) en el CTG inducen conducta de sueño en el gato, así como signos polisomnográficos del SMOR (Silberman y col., 1980). Asimismo, los inhibidores de la acetilcolinesterasa, como la neostigmina, incrementan el porcentaje, la duración y frecuencia del SMOR; este efecto pudo ser bloqueado con atropina (Baghdoyan y col., 1983). Cabe hacer notar que la estimulación colinérgica del mesencéfalo o la médula oblongada no fué capaz de reproducir los signos del SMOR. Ya que el carbacol actúa tanto sobre receptores muscarínicos como nicotínicos, se probaron los efectos del bethanecol, agonista muscarínico, inyectado al centro del CTG

(Hobson y col., 1983). Dicho fármaco indujo directamente a partir de la vigilia todos los signos del sueño MOR, con una duración 7 veces mayor que la normal. Estos trabajos dieron origen a un análisis más fino (Baghdoyan y col., 1987), con el cual se encontró que existe un gradiente neuroanatómico dentro de la formación reticular pontina para la inducción colinérgica del sueño MOR. De aquí que realizaron una correlación entre el sitio de inyección de carbacol y acetilcolina con 4 variables: latencia, porcentaje, duración y frecuencia de sueño MOR. En este caso se observó que la frecuencia del sueño MOR aumentó independientemente del sitio de inyección. Por otra parte, la inyección llevada a cabo en áreas pontinas rostro dorsales fué la que indujo sueño MOR con una latencia más corta, así como con una mayor duración.

Asimismo, la estimulación colinérgica con carbacol en la FRP de la rata promueve un aumento en la frecuencia de aparición del SMOR, efecto que puede ser bloqueado con escopolamina. (Shiromani y col., 1986; Domino y col., 1986). Un efecto similar se observa inhibiendo la acetilcolinesterasa con fisostigmina y Di-Isopropyl-Fluorofosfato (Gnadt y col., 1985). Además, la inyección endovenosa de fisostigmina en el humano normal, durante el sueño lento disminuye la latencia para la presentación del sueño MOR (Sitaram y col., 1976).

Para determinar si la inducción de sueño MOR por carbacol era debida a un efecto fisiológico sobre las células del CTG, Shiromani y McGinty (1986) estudiaron la actividad unitaria de 56 de dichas neuronas durante la infusión de carbacol. De estas

células, el 56% redujeron su frecuencia de disparo, 12.5% no mostraron cambio y el 26.6% aumentaron su frecuencia de descarga. Tanto el aumento como la disminución en las respuestas coincidieron con la presentación del SMOR y persistieron a lo largo de éste. Ya que en condiciones de control, las células que disminuyeron su actividad mostraron el patrón típico de aumento de disparo durante el sueño MOR, los autores sugieren que esa disminución pudo deberse a un efecto inespecífico del Carbacol. Sin embargo, la población de neuronas que sufrieron un aumento en la frecuencia de disparo podrían ser importantes en la presentación del sueño MOR, al ser excitadas colinérgicamente. Por otra parte, aunque los estudios iniciales sugirieron que el CTG podría ser colinérgico, ya que se tenía para acetil colinesterasa (Shutte y Lewis, 1968) estudios más recientes han demostrado que dicha estructura es colinoceptiva (Wamsley y Col., 1981) más no colinérgica. Por ejemplo, estudios hechos con autoradiografías han demostrado la presencia de receptores muscarínicos en esa área. En un trabajo inicial, Shiromani (Shiromani y col., 1988) demostró que ninguna de las células de la FRP del gato era inmunoreactiva a colina acetil transferasa. Sin embargo, se encontró que un grupo de células contiguas al brachium conjunctivum (BC) (núcleos pedunculo pontinos, PPN), así como el núcleo latero dorsalis tegmenti (LDT) tifieron densamente para dicha enzima. Asimismo, en este trabajo se estudió la inmunoreactividad a tirosina hidroxilasa (th), encontrándose células catecolaminérgicas mezcladas con colinérgicas en el PPN, (incluye el locus coeruleus y subcoeruleus). El hecho de que se encontraron muchas proyecciones de las células inmunoreactivas a-

th del locus coeruleus al grupo LDT, sugiere una interacción entre ambos grupos como participantes en mecanismos de sueño. Estos resultados han sido también confirmados por Sakai (1988). Asimismo, se ha probado que las células catecolaminérgicas son del tipo "REM off" y las colinérgicas "REM on" (Rasmussen y col., 1986). Las células "REM off" aumentan su frecuencia de disparo durante la vigilia, a estímulos dolorosos, auditivos y visuales.

Haciendo pruebas con microinyecciones de carbacol en el puente, encontraron que el único sitio que indujo sueño MOR con una latencia menor de 5 minutos fueron las regiones del locus y peri locus coeruleus. Estas inyecciones desencadenan todos los componentes del SMOR (Sakai, 1988).

Para probar los efectos del carbacol sobre estos dos tipos celulares simultáneamente, Sakai registró la actividad unitaria en las regiones del peri locus coeruleus y LC \leftarrow perfundiendo carbacol al mismo tiempo. Lo que observó fue que paralelamente al desencadenamiento del SMOR las "on" se activaron y las "off" se desactivaron, en correlación con la aparición de PGOs. Estos resultados se revirtieron con la inyección de sulfato de atropina.

Ya que las células "on" son capaces de responder al carbacol, Sakai sugiere que estas células además de ser colinérgicas son colinoceptivas. Esto lo probó utilizando un marcador retrógrado conjugado con inmunocitoquímica para colina acetiltransferasa, inyectado en el complejo coeruleus. Al nivel del puente, se encontraron células doblemente teñidas en el LC \leftarrow , peri LC \leftarrow y el núcleo peribraquial. Al nivel del bulbo,

encontraron que las células del magnocelularis y parvocelular también proyectan al peri LC- y LC-.

Con base en estos resultados Sakai propone la hipótesis "de interacción recíproca mutua", la cual consiste en que al cesar el disparo de las células "off" se excitan las "on" por desinhibición, mientras que la excitación de las "on" inhibe a las "off". Por lo tanto, el MOR puede ocurrir ya sea por excitación directa de las "on" o por inhibición de las "off". Este modelo es diferente al de Hobson y McCarly en el cual las "REM off" son inhibitorias a las "on", pero las "on" son excitatorias a las "off". En este modelo se da más importancia a la inactivación de las células monoaminérgicas "off", que a la activación de las "on". A diferencia del modelo de Hobson y McCarly, este modelo no toma en cuenta a las células del rafe ni al CTG.

Para establecer una relación entre los núcleos colinérgicos ya mencionados, y el sueño MOR, Webster y Jones, (1988) produjeron lesiones con ácido kaínico, encontrando que el sueño MOR se eliminaba durante las primeras semanas post lesión. Algunos animales que sufrieron recuperación, mostraron períodos muy cortos, con poca densidad de PGOs y movimientos oculares. Estos efectos estuvieron correlacionados con el número de neuronas colinérgicas que sobrevivieron a la lesión. Estos resultados apoyan observaciones previas que mostraron la participación colinérgica de dichas estructuras en la generación de los eventos que componen el SMOR:

Atonía Muscular

La inyección de carbacol en la zona ventral al locus coeruleus (Van Dongen y col., 1977), produce atonía sin inducir los demás componentes del sueño MOR. Lo mismo ocurre con la aplicación de fisostigmina, un inhibidor de la colinesterasa (Kartayama y col., 1984). Asimismo, las lesiones circunscritas de esa área producen el síndrome denominado "sueño MOR sin atonía", en el cual todos los componentes del sueño MOR se manifiestan, pero los animales presentan diferentes conductas debido a la pérdida de la atonía (Henley y Morrison, 1974).

Espigas PGO

Las espigas PGO pueden ser provocadas sin inducción del sueño MOR por la inyección de carbacol en el área del PPN (Baghdoyan y col., 1983).

La aplicación sistémica de atropina disminuye la densidad de espigas PGO, (Jacobs y col., 1972). Otras evidencias obtenidas con técnicas de lesión y actividad unitaria (Sakai, 1980) sugieren que células colinérgicas en las porciones mediales del PPG y dorsales al brachium conjunctivum podrían ser las generadoras de las espigas PGO. Asimismo, De Lima y Singer (1987) han encontrado que las aferencias del tallo cerebral al cuerpo geniculado provienen de la vecindad del BC, y que la mayoría de estas células son colinérgicas.

Desincronización cortical

Ya que las células colinérgicas de los núcleos PPN y LDT inervan al tálamo, y la estimulación de dichos núcleos activan a

varias estructuras talámicas, Shiromani y col. (1988) los proponen como candidatos para inducir la desincronización cortical durante el SMOR. Estos núcleos forman parte del sistema reticular activador ascendente, descrito por Moruzzi y Magoun (1949). Asimismo, la inyección sistémica de atropina induce sincronización cortical (Domino y cols., 1968).

Movimientos Oculares

Se han observado proyecciones del PPN y LDT al colículo superior y a los núcleos oculomotores del tallo cerebral, lo cual también sugiere la participación colinérgica en la generación de movimientos oculares durante el MOR (Webster y col., 1988).

Finalmente, quisiera mencionar 2 trabajos recientes que demuestran contundentemente la existencia de conexiones anatómicas de los núcleos colinérgicos y monoaminérgicos con el CTG.

Mediante la técnica inmunocitoquímica para colina acetiltransferasa combinada con transporte retrógrado de peroxidasa de rábano, Mitani y col. (1988) encontraron que el PPN y el LDT son la fuente de proyecciones colinérgicas al CTG del gato.

Por otra parte, utilizando una nueva técnica en la que se conjuga la incorporación de carbacol a microesferas de latex fluorescentes, ha sido posible inducir sueño MOR al mismo tiempo que se marcan retrógradamente las neuronas que proyectan al sitio de inyección. De tal manera que la inyección de dichas

microesferas en la región anterodorsal del CTG, la cual tuvo una difusión muy reducida, fue capaz de inducir períodos MOR muy prolongados, similares a los que induce el carbacol solo. Las estructuras marcadas retrógradamente fueron el rafe dorsal, LC, los núcleos PPN, el LTD y el CTG (Quattrochi y col., 1989).

Estas nuevas evidencias, aunque no apoyan el concepto del CTG como "centro" productor del SMOR, sí demuestran que éste forma parte de la circuitería involucrada en su generación.

Con esta revisión he intentado resaltar los avances neurofisiológicos más recientes que podrían explicar los mecanismos generadores del sueño MOR. No obstante, es necesario mencionar que paralelamente a dichos estudios se han desarrollado otros en los cuales se han encontrado una gran variedad de sustancias con propiedades hipnagógicas. La mayoría de ellas son péptidos y se han considerado como moduladores. Por mencionar solo algunas: arginina-vasitocina, colecistokinina, el péptido intestinal vasoactivo, la hormona del crecimiento, prolactina, somatostatina, etc. (Inoué y cols., 1988). Sin embargo, no existe hasta la fecha una teoría que explique la interacción de tantas sustancias, neurotransmisores y estructuras para dar origen al sueño MOR (Drucker-Colín y col., 1985).

Actividad de las vías sensoriales durante el sueño

Una de las características más conspicuas del sueño es la pérdida de contacto entre el individuo y el medio ambiente que lo rodea. Solamente aquellos estímulos que por su significado o su intensidad sean de relevancia, producirán el despertar. En otras

palabras, la reactividad del sistema nervioso a los estímulos sensoriales se encuentra modificada durante el sueño.

Ya que el umbral para el despertar se encuentra aún más aumentado durante el sueño MOR, éste se ha considerado como la fase más profunda del sueño. Así, se ha encontrado que el despertar inducido por estimulación directa de la formación reticular mesencefálica, requiere para ser inducido, de una intensidad hasta 500% mayor que durante el sueño lento (Benoit y col., 1960).

Un efecto parecido se observa cuando se registra el potencial provocado en respuesta a estimulación auditiva en la formación reticular mesencefálica, durante distintos estados de vigilancia. De tal manera que éste siempre fue mayor durante la vigilia y decreció durante sueño lento y sueño MOR (Huttenlocher, 1960; Winters y col., 1967).

Los umbrales para provocar la respuesta galvánica de la piel, mediante estímulos sonoros, han sido también medidos a través de los distintos estados de sueño (Trigona-Leisenger y col., 1977). En este trabajo se encontró que dichos umbrales aumentaron significativamente durante el sueño lento y de manera más notoria durante el SMOR.

En términos generales, estos experimentos han sugerido que la formación reticular, como parte de la vía sensorial inespecífica, tiene muy reducido su nivel de excitabilidad durante el SMOR (Jouvet, 1962; Huttenlocher, 1960). Esto podría deberse a que la actividad espontánea de dicha estructura es muy elevada durante el sueño MOR, por lo cual las respuestas

provocadas pueden atenuarse por oclusión.

Por el contrario, la excitabilidad de las vías específicas durante el MOR es tanto o más elevada que durante la vigilia; por ejemplo, el núcleo coclear responde a estímulos auditivos durante ambas fases de sueño, y la respuesta cortical primaria a sonidos aumenta en el SMOR (Flandrin y col., 1979; Huttenlocher, 1960). Asimismo, los potenciales provocados en la corteza visual, cuando se estimula el quiasma o el tracto óptico disminuyen cuando el animal pasa de la vigilia al sueño lento. Sin embargo, estos aumentan durante el sueño MOR a niveles aún mayores que durante la vigilia (Dagnino y col., 1965; Favale y col., 1963). Un efecto similar ha sido demostrado por Rossi y col. (1965), estimulando el cuerpo geniculado lateral, así como con los potenciales provocados en la corteza sensorio-motora por estimulación del tracto piramidal y el núcleo ventro postero lateral del tálamo. Estos resultados fueron confirmados por Allison (1965) quien encontró que la respuesta primaria de la corteza somatosensorial aumenta de la vigilia al sueño lento, encontrándose un aumento mayor durante el SMOR.

En su conjunto estos experimentos sugieren que la excitabilidad de la vía talamo cortical se encuentra al máximo durante el sueño MOR (Rossi y col., 1965).

El sueño como un fenómeno plástico.

Por otra parte, a pesar de los cambios en excitabilidad de las vías sensoriales durante el sueño, resulta interesante que éste a su vez pueda ser modulado por condiciones que producen el procesamiento de información sensorial como consecuencia de la

interacción entre el sujeto y el medio ambiente. Así, el sueño puede modificarse o inducirse por condicionamiento clásico, el aprendizaje y la estimulación sensorial.

Dewan, en 1970, propone que el cerebro de los animales superiores se encuentra en un estado de alteración constante, esto es, que el sistema nervioso central requiere de una reprogramación permanente para que los organismos puedan enfrentarse a nuevas situaciones y necesidades. En este caso, él sugiere que el sueño es idóneo para que este proceso se lleve a cabo, ya que los animales se encuentran "desconectados" de su medio ambiente, lo que facilitaría dicha programación. Esta idea fue retomada posteriormente por Jouvet en 1978, quien emite la hipótesis de que una "programación genética" del cerebro ocurre durante la fase de sueño de movimientos oculares rápidos. Durante dicha programación se llevarían a cabo la revisión de programas endógenos que mantendrían, facilitarían e inducirían la emisión adecuada de la conducta innata. El considera al sueño MOR como un buen candidato para que estos procesos se lleven a cabo porque la entrada de información sensorial está atenuada y la actividad muscular inhibida; quedando así el cerebro en un estado ideal para que la programación ocurra.

Fue Pavlov (1927; citado en Jouvet y Moruzzi, 1972) quien observó por primera vez que un estímulo condicionado positivamente podía transformarse en uno negativo o inhibitorio cuando éste se repetía sucesivamente durante mucho tiempo sin la administración de un refuerzo. Este fenómeno se denominó inhibición interna. El sueño siempre ocurría durante este tipo

de experimentos, por lo cual Pavlov sugirió que la inhibición interna y el sueño podían ser 2 aspectos de un mismo mecanismo inhibitorio. En otro tipo de experimentos, Pavlov (1923, citado en Jouvet y Moruzzi, 1972) encontró, que cuando se utilizaba la estimulación térmica de la piel como un estímulo condicionado, la presentación del sueño ocurría fácilmente. Asimismo, él observó que cuando el intervalo entre los estímulos condicionado e incondicionado era un poco largo (de 30 a 60 segundos), el animal presentaba somnolencia y se dormía en cada sesión, aún durante la primera aplicación de la estimulación térmica. Dichos resultados se han interpretado como la respuesta del cerebro anterior (el cual está involucrado en mecanismos de sueño) a la estimulación de aferencias provenientes de los receptores térmicos (Moruzzi, 1972).

Siguiendo la línea experimental de Pavlov, Roitback (1960) encontró que perros y gatos en libre movimiento, a los cuales se les sometía a estimulación eléctrica de la piel, gradualmente mostraban somnolencia y ondas lentas en el electroencefalograma. Estos resultados fueron importantes porque con ellos se obtuvieron pruebas contundentes de que los signos conductuales y electroencefalográficos de sueño podían ser inducidos por estimulación periférica. Posteriormente, Pompeiano y col. (1962) estimularon fibras aferentes cutáneas y musculares, demostrando que el efecto encontrado por Roitback, estaba mediado a través de vías que cursan por el grupo II de fibras cutáneas.

Asimismo, Clemente y col., (1964) mostraron que se podía obtener sincronización del electroencefalograma (EEG) acompañado de sueño conductual mediante un proceso de condicionamiento.

Para este efecto, se presentó un tono (2 KHz) 10 segundos antes y 20 segundos durante la estimulación del cerebro anterior. Los ensayos fueron repetidos cada minuto durante la sesión de condicionamiento con un intervalo de 30 segundos entre un ensayo y el principio de un tono subsecuente. Después de varias presentaciones pareadas, se observó que el tono aislado, el cual había producido desincronización del EEG antes del condicionamiento, tenía un efecto sincronizador en el gato alerta y en libre movimiento. Asimismo, los animales mostraron conducta de sueño típica de su especie al momento de la presentación del estímulo auditivo.

Existen numerosos estudios en los que se ha observado una estrecha relación entre el aprendizaje y el sueño. En estos trabajos se han utilizado fundamentalmente 2 tipos de diseño experimental; en el primero, se realizan registros poligráficos de sueño antes y después del entrenamiento en diversas tareas de distintas especies de animales (ratas, ratones y gatos). Los parámetros de sueño entonces, son correlacionados con curvas de adquisición de dichos animales (Lecas, 1976; Smith y col., 1980; Sloan, 1972). Durante el segundo diseño, el entrenamiento es precedido o seguido por un período de privación de sueño MOR (Butler y col., 1980; Danguir y col., 1976).

Salvo raras excepciones, en la mayoría de los experimentos correspondientes al primer diseño experimental, se ha encontrado un incremento significativo del sueño MOR después del aprendizaje de diversas tareas. Resulta interesante que estos aumentos del SMOR no son uniformes a través de 24 horas de registro; de tal

manera que parecen confinados a pequeños segmentos del día, algunas veces manifestándose inmediatamente después de la instalación del sueño que ha sido precedido por entrenamiento, y otras veces, apareciendo horas después de períodos de sueño normales. En general, la privación de sueño MOR durante esos períodos de aumento, provoca un déficit del aprendizaje. A estas fases de sueño MOR relacionadas con la consolidación de la memoria se les ha denominado "ventanas de sueño MOR" (Smith y col., 1985; Fishbein y col., 1974; Coenen, 1975).

En cuanto a los experimentos en los que se utilizó la privación de sueño MOR, Leconte y Hennevin (1973) han mostrado que a partir de los 90 minutos, ésta empieza a influir sobre el grado de adquisición; mientras que 3 horas de privación retardan severamente la adquisición de una tarea en la rata.

En otro tipo de experimentos, se han observado los efectos del medio ambiente "enriquecido" y el "empobrecido" sobre los patrones de sueño de ratas y ratones. Kiyono y colaboradores (1981), encontraron que los animales mantenidos en un ambiente enriquecido, presentaron un aumento en el tiempo total del sueño MOR y en la frecuencia de dichos períodos durante las horas nocturnas de un registro de 24 horas (el período de más actividad en la rata). Asimismo, encontraron que el sueño lento se incrementó aunque en menor proporción que el SMOR. Estos resultados han sido corroborados posteriormente por Mirmiran y col. (1982) en ratas crecidas en medio enriquecido, las cuales mostraron un aumento significativo del sueño MOR a partir de las 4 primeras semanas de exposición a dicho medio. Además de los patrones de sueño, en este trabajo se compararon los pesos

cerebrales entre los animales en experimentación y los controles, encontrándose que los primeros presentaban mayor tamaño a niveles hipotalámicos y corticales.

Los estudios que han utilizado estímulos sensoriales más específicos, también han demostrado sus efectos sobre el sueño, por ejemplo: La estimulación de la vía visual por destellos luminosos, produce signos conductuales de sueño, así como sincronización del electroencefalograma, tanto en el gato (Mencia y cols., 1959) como en el humano (Gastaut y col., 1961).

Asimismo, la estimulación de las vías aferentes viscerales es capaz de inducir sueño lento (Magnes y col., 1961; Bonvallet y col., 1958) y de modular al sueño MOR (Puizillout y col., 1976). Estos últimos autores encontraron que la estimulación del nervio vago es capaz de inducir un aumento tanto en la frecuencia como en la duración del SMOR. De tal manera que durante las sesiones de registro, se alternaron, 1 hora control y 1 hora con estimulación vagoaórtica, encontrándose que el sueño MOR aumentó en frecuencia, produciéndose una reducción paralela en su duración.

Por otro lado, cuando el estímulo se aplicó durante el SMOR, éste sufrió un aumento en su duración y una disminución en su frecuencia.

Otros experimentos han demostrado que la estimulación vestibular, auditiva y vibratoria también ejercen acciones modulatorias sobre el sueño MOR. En este sentido, los gatos que fueron balanceados durante la sesión de registro, mostraron un aumento en el porcentaje de dicha fase de sueño (McGinty, 1985).

Asimismo, si se aplican 15 min de vibración (100 Hz) o 15 minutos de ruido (75 dB) inmediatamente antes de comenzar la sesión de registro (2 horas de duración) se encuentra lo siguiente: después de la vibración, el sueño MOR aumentó durante los primeros 40 minutos, tanto en frecuencia como en duración. Por otra parte, después de la estimulación auditiva, la duración del sueño lento aumentó, durante el mismo tiempo, mientras que el sueño MOR no sufrió cambios (Doneshka, 1974).

Recientemente (Drucker-Colín y col., 1983) se ha demostrado que la estimulación auditiva durante el sueño de ondas lentas que precede al SMOR y a lo largo de toda su duración, induce una disminución de la latencia para su aparición. Asimismo, se observó un aumento en la densidad de espigas PGO, así como en la duración de dicha fase de sueño. Estos resultados fueron posteriormente confirmados en el humano, encontrándose un aumento en la frecuencia y duración del SMOR (Mouze-Amady y col., 1986).

Otro tipo de estimulación sensorial, como la somática (estimulación eléctrica de la piel), también indujo un aumento significativo del SMOR y de la densidad de espigas PGO (Arankowsky y col., 1987). Ya que dichos aumentos fueron muy similares a los inducidos por la estimulación auditiva, se propuso que ambas modalidades actúan a través de un mecanismo común.

El hecho de que ambos parámetros resultaran afectados por la estimulación sensorial, sugirió que el aumento en la densidad de PGOs podría estar reforzando los mecanismos del sueño MOR, produciendo así periodos más largos. Sin embargo, la reducción en la densidad de espigas PGO, inducida con sulfato de atropina,

no impide el aumento del sueño MOR por estimulación (Arankowsky y col., 1986).

HIPOTESIS

La formación reticular pontina parece está involucrada en los mecanismos productores del sueño MOR, y además, recibe colaterales de las vías auditiva y somática. Apoyándonos en esta información, proponemos que la estimulación sensorial incrementa los niveles de excitabilidad de neuronas polisensoriales de la formación reticular pontina, lo cual da como resultado un aumento en la duración del sueño MOR.

OBJETIVO

Este trabajo tiene como objetivo determinar si la lesión de la formación reticular pontina con ácido kaínico impide el aumento del sueño MOR producido por estimulación sensorial. Asimismo, con la finalidad de conocer si la estimulación sensorial produce cambios en los niveles de excitabilidad de la FRP que pudieran explicar el aumento del sueño MOR, se estudió la actividad unitaria de dichas células.

* El término excitabilidad se refiere a cambios en la frecuencia de disparo neuronal.

MATERIAL Y METODO

PROTOCOLO 1. IMPLANTACION.

Para realizar este experimento se utilizaron 20 gatos de ambos sexos con un peso de 2.5 a 3.5 kg. Estos animales se mantuvieron en un bioterio donde se encontraban bajo el cuidado del médico veterinario.

Bajo anestesia con pentobarbital sódico (35 mg/kg) y en condiciones de asepsia, los animales fueron sometidos a cirugía estereotáxica para la implantación de electrodos para registro polisomnográfico convencional. Dichos electrodos consistieron en tornillos de acero inoxidable en la órbita del ojo para registro del electro oculograma, así como de la actividad eléctrica de la corteza parietal; el registro del electromiograma se llevó a cabo insertando en los músculos de la nuca un par de alambres de acero inoxidable cubierto con teflón. Asimismo, en el cuerpo geniculado lateral se implantaron bilateralmente electrodos tripolares de acero inoxidable, para registro de las espigas PGO. Todos los electrodos fueron soldados a un conector amphenol y fijados al cráneo con acrílico dental. Para la estimulación somática, se utilizaron 2 grapas de sutura soldadas a un cable, las cuales se insertaron en la piel del cuello de los animales. Los animales fueron tratados con antibióticos al finalizar la cirugía, recibiendo un refuerzo después de transcurridos 21 días (Benzetacil 1x10 U, vía intramuscular).

REGISTROS.

Después de una semana de recuperación, los animales fueron colocados para su habituación en una cámara

sonoamortiguada, la noche previa al día de registro. Ese día se registró poligráficamente el ciclo vigilia-sueño por periodos de 8 horas (10-18 hrs.). El procedimiento para llevar a cabo dichos registros consistió en alternar periodos de sueño MOR controles (sin estimulación sensorial) con periodos en los que se estimuló auditiva o somáticamente, durante la misma sesión. Este procedimiento permitió determinar los valores pre lesión de sueño MOR, tanto para episodios controles como para estimulados. Tres de los 20 animales fueron utilizados como control para determinar el efecto de la estimulación auditiva a través del tiempo, en el animal normal.

La estimulación auditiva consistió en un tono de tipo "bip", de 2 KHz de frecuencia, 90 dB de intensidad y 20 msec de duración, generado a través de una bocina instalada en la caja de registro. Los parámetros de estimulación somática consistieron en trenes de pulsos de 100 Hz, los cuales tuvieron una duración de 200 msec; 5 msec de duración x pulso, 1-4 mA de corriente, generados por un estimulador Grass S88 a través de una unidad de corriente constante. Ambos tipos de estimulación fueron aplicados cada 20 segundos desde el inicio y a lo largo de la duración del sueño MOR. Los umbrales de respuesta para la estimulación somática se determinaron durante la vigilia, seleccionándose la intensidad de corriente necesaria para producir un ligero movimiento de orientación de la cabeza.

LESION

Una o dos semanas después del registro basal, los animales fueron anestesiados nuevamente, e inyectados bilateralmente en la

formación reticular pontina medial (P 4.5, L \pm 2.0, V 6.0) con ácido kaínico (AK) ajustado a pH 7.3. Las inyecciones fueron llevadas a cabo en un lapso de 10 minutos con una microjeringa Hamilton, la cual se dejó por 10 minutos adicionales para asegurar la permanencia de la droga. Cabe mencionar que los primeros 10 gatos fueron lesionados con 4 μ g/ μ l de AK, según dosis reportadas en la literatura. Ya que esta dosis produjo la muerte de 8 de esos animales, y los 2 sobrevivientes mostraron una lesión extensiva a regiones adyacentes, los 7 gatos restantes fueron lesionados con 1 μ g/0.5 μ l de Ak. Sin embargo, los resultados también incluyen a los 2 gatos lesionados con la dosis más alta porque sus patrones de sueño después de la lesión no variaron en relación a sus respectivos controles. Durante un período de recuperación de 2 semanas, los animales fueron vigilados constantemente, midiéndoles su temperatura y alimentándolos forzosamente cuando fue necesario. Estos animales fueron nuevamente registrados a los 15, 30 y 45 días postlesión, probándose los efectos de la estimulación sensorial sobre el sueño MOR, como se describió anteriormente. Los 3 gatos controles también fueron probados 3 veces a los mismos intervalos de tiempo.

Para el análisis estadístico se cuantificó la duración del sueño MOR así como el número de espigas PGO por minuto determinándose las significancias mediante la prueba "t" para muestras correlacionadas.

HISTOLOGIA

Al finalizar los experimentos, los animales fueron sacrificados y después perfundidos intracardiamente con solución salina, seguida de formol al 4%. Los cerebros fueron extraídos y posteriormente cortados en secciones coronales de 7 μ m de grosor y teñidos por el método de Kluver-Barrera. El análisis histológico de las lesiones se llevó a cabo por cuantificación celular, comparando con 3 cerebros de animales normales. Dicha comparación se llevó a cabo utilizando un sistema analizador de imágenes automatizado. (MC1D), tomando como área de muestro, en el plano posterior, de 2 a 5.5 mm, el plano lateral hasta 2.5 mm a partir de la línea media y el vertical de -4 a -7 mm. Las cuantificaciones se hicieron desechando 1 laminilla de cada 5 (21 μ m cada 106 μ m).

PROTOCOLO 2

En este caso, se implantaron 8 gatos para registro polisomnográfico convencional, de la manera ya descrita. Adicionalmente, les fueron colocados microelectrodos para registro crónico de la actividad unitaria de la FRP. Las coordenadas que se utilizaron fueron, en el plano antero posterior de 3.5 a 5.5 mm. En el plano vertical, los recorridos se hicieron de -4.5 a -7 mm, desplazándose los microelectrodos en pasos de 83 μ m. Las laterales exploradas fueron de 1.6 a 2 mm a partir de la línea media. El micromanipulador consistió en un par de cánulas guía (calibre 20) separadas por 1 mm, a las cuales les fueron insertadas 2 cánulas internas (calibre 23) que podían ser

desplazados en el plano vertical por un tornillo soldado a ambas. Dichas cánulas internas sirvieron para portar de 6 a 7 microelectrodos cada una. Los microelectrodos fueron alambres de acero inoxidable, recubiertos con Foravar, de 32 μ m de diámetro (California Fine wire), que sobresalían de 3-5 mm de la cánula interna. Una vez insertados los alambres, estos fueron soldados a 2 conectores miniatura (Winchester) que se fijaron al cráneo con acrílico dental.

Las señales detectadas por los microelectrodos fueron llevadas al equipo de registro a través de cables de bajo ruido, blindados con malla de cobre (Filotex). Dicho equipo (Neurofeedback Instruments de 4 canales) consistió en preamplificadores diferenciales, dotados de filtros. Cada canal tenía 6 selecciones de filtros en un rango de 60 Hz a 10 KHz para limitar las respuestas de alta frecuencia de los amplificadores. Asimismo, cada canal tenía 2 selecciones de filtros de 1 Hz y 300 Hz, para limitar las respuestas de baja frecuencia. Las señales filtradas pasaban a un post amplificador, del cual provenían las salidas del aparato. La señal amplificada y filtrada (3 KHz y 300 Hz), se envió a un osciloscopio Hewlett-Packard 1201A/B, así como a una computadora Gama, previa digitalización.

Asimismo, la señal amplificada pasaba por discriminadores de voltaje o ventanas, con las cuales se podía seleccionar un nivel máximo y mínimo de amplitud para que las espigas fueran detectadas por un contador de pulsos. Este último tiene una salida para el registro de dichos pulsos en el mismo papel en el cual se registra el polisomnograma, permitiendo así la cuantificación visual de la frecuencia de disparo y observar su

relación con los ciclos de sueño. Este método fue utilizado mientras se desarrolló un programa de computadora que permitió la captura y el análisis de datos con más precisión.

Durante los experimentos, los electrodos fueron avanzados hasta encontrar unidades estables, con niveles de señal-ruido mayores de 2:1, registrándose su actividad durante períodos MOR controles y períodos estimulados auditivamente, como ya fué descrito en el Protocolo 1.

Para el análisis de la frecuencia de disparo registrada en el papel, ésta se cuantificó tomando muestras de la actividad durante 10 seg. cada 20 seg. de varios períodos estimulados y controles, determinándose así las medias y desviaciones estándar para cada célula.

Por otra parte, una vez que se obtuvo el programa para captura y análisis por computadora de actividad unitaria (Depto. de Cómputo, IFC) fué posible analizar los siguientes parámetros: Ráfagas por segundo; la computadora reconoció como ráfagas al conjunto de espigas que tuvieron menos de 140 mseg de intervalo entre ellas (valor reportado por McGinty, 1977). Si se presentaba un intervalo mayor de 140 mseg entre una espiga y la subsecuente, se consideró como el inicio de una nueva ráfaga.

Espigas por ráfaga: se consideraron al número de potenciales que se presentaron durante el evento reconocido como ráfaga por la computadora.

Duración por ráfaga: tiempo que duró el evento reconocido como ráfaga por la computadora.

Intervalo Inter-ráfaga: Fué el tiempo transcurrido entre la

última espiga de una ráfaga y la primera de la subsecuente.

Asimismo, el programa permitió construir histogramas de frecuencia.

Para determinar si hubo cambios en la actividad individual de las células, se comparó la media de la frecuencia de disparo obtenida durante los periodos de sueño MOR controles con la media obtenida de periodos estimulados. Las células que mostraron cuando menos un 25% de cambio en su actividad fueron agrupadas y comparadas mediante una prueba de "t" para muestras correlacionadas.

HISTOLOGIA

Al finalizar los experimentos, los animales fueron anestesiados, para marcar la localización de los microelectrodos. Esto se llevó a cabo pasando de 10 a 15 μ A de corriente directa, durante 30 segundos, en 2 microelectrodos de cada banda. Inmediatamente, se llevó a cabo la perfusión con solución salina, seguida de formol al 4%. Los cerebros fueron extraídos, cortados en secciones sagitales o coronales de 20 μ de grosor y teñidos por el método de Klüver-Barrera.

RESULTADOS

PROTOCOLO 1

GRUPO CONTROL

En el grupo de animales utilizado para determinar el efecto de la estimulación auditiva a través del tiempo, se encontró que la duración del sueño MOR aumentó, en comparación a los controles cada día que dicho estímulo fué probado (Tabla I). Los valores de t para los días 1, 15 y 30 fueron 4.65 ($g1=2$, $p < 0.02$), 6.18 y 6.30 ($g1=2$, $p < 0.01$) respectivamente.

TABLA I

EFECTO DE LA ESTIMULACION AUDITIVA SOBRE LA DURACION DEL SUEÑO MOR ($\bar{X} \pm D.E.$) DURANTE 3 SESIONES DE REGISTRO, CON INTERVALOS DE 15 DIAS.

Días de Registro	Control (n = 3)	Estímulo auditivo
1	6.33 ± 1.39	9.36 ± 2.05 **
15	5.25 ± 2.13	9.19 ± 2.38 *
30	6.17 ± 1.05	10.12 ± 1.30 *

* $p < 0.001$

** $p < 0.01$

CONTROL PRE LESION

Durante los registros basales, la duración media y la desviación estándar de los periodos MOR sin estimulación

sensorial fué de 6.34 ± 2.29 min. mientras que en los períodos estimulados auditiva y somáticamente se observó un aumento estadísticamente significativo. Para los primeros, la duración media fué de 9.40 ± 1.0 min ($t=5.1$, $g=8$, $p < 0.001$), y de 10.11 ± 1.01 min para los segundos ($t=4.3$, $g=8$, $p < 0.001$), respectivamente (Tabla II).

LESION

Como ya fué mencionado en la sección de métodos, las lesiones de la FRP se hicieron inicialmente con 4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de AK. En este caso, dicha dosis produjo la muerte de 8 animales, a las pocas horas de haberse administrado. Esto fué debido a una gran difusión del AK, tanto a niveles caudales como rostrales. Dos de los animales que sobrevivieron a esta dosis mostraron dificultad para ingerir alimentos, ya que tuvieron lesión parcial del núcleo motor del trigémino. Sin embargo, ya que se les alimentó forzosamente, pudieron subsistir durante el tiempo que duró el experimento. Los 7 animales que fueron lesionados con 1 $\mu\text{g}/0.5$ μl , no presentaron problemas motores severos, salvo una ligera ataxia durante la primera semana post-lesión.

Después de efectuarse las lesiones, la duración media de los períodos de sueño MOR que no fueron estimulados, permaneció sin cambios significativos en comparación al control pre lesión, a lo largo del tiempo de registro (Tabla II).

Por otra parte, en los períodos de sueño MOR que recibieron estimulación sensorial no se encontró ningún aumento en la duración cuando fueron comparados con sus respectivos controles postlesión (" t " = 1.05, .68 y .34, para los días 15, 30 y 45

respectivamente) (ver Tabla II). Dicha duración permaneció significativamente menor de los valores controles estimulados auditivamente, aún durante el día 45 de registro. ($t = 5.36$, $gl = 8$, $P < 0.001$). Asimismo, la estimulación somática en los animales lesionados fué incapaz de aumentar la duración del sueño MOR ($t = 5.23$, $gl = 8$, $P < 0.001$ comparada con el estímulo somático prelesión), aunque en este caso solo se pudo registrar hasta el día 15, ya que los electrodos de grapa se cayeron poco tiempo después.

TABLA II

DURACION MEDIA Y DESVIACION ESTANDAR DEL SUERO MOR (MIN) ANTES Y DESPUES DE LESIONAR LA FRP, DURANTE EXPERIMENTOS CONTROLES Y CON ESTIMULACION SENSORIAL.

	CONTROL	ESTIMULO AUDITIVO	ESTIMULO SOMATICO
(n = 9)			
PRE LESION	6.24 ± 2.29	9.40 ± 1.0 *	10.11 ± 1.01*
DIAS	15 5.59 ± 1.23	5.25 ± 1.50	6.03 ± 1.09**
	30 5.56 ± 1.80	6.03 ± .99	-
POST LESION	45 6.30 ± 1.16	6.33 ± 1.39**	-

* $P < 0.001$ Estímulo auditivo y somático vs control pre lesión.

** $P < 0.001$ Estímulo auditivo y somático post lesión vs control estimulado pre lesión.

La cuantificación de espigas PGO mostró que éstas aumentaron significativamente a consecuencia de la estimulación auditiva. Dicho efecto se siguió observando después de la lesión, durante todos los días de registro, (tabla III). El número de espigas PGO/minuto en los controles no estimulados fué de 57.2 ± 4.1 , mientras que para los estimulados fué de 66.1 ± 4.3 ($t = 8.0$, $gl = 7$, $P < 0.001$); 15 días después de la lesión, estos valores fueron 60.7 ± 2.8 y 69.2 ± 5.1 respectivamente ($t = 6.7$, $gl = 7$, $P < 0.001$). Los valores de t para los días 30 y 45 fueron 7.4 y 7.6, $p < .001$, respectivamente.

TABLE III
EFECTOS DE LA ESTIMULACION AUDITIVA SOBRE LA DENSIDAD DE ESPIGAS
PGO/MINUTO ($\bar{X} \pm DE$): ANTES Y DESPUES DE LA LESION DE FRP.

	CONTROL	ESTIMULO AUDITIVO
	(n = 7)	
PRE - LESION	57.2 ± 4.1	66.1 ± 4.3 *
DIAS		
15	60.7 ± 2.8	69.2 ± 5.1 *
30	58.1 ± 2.6	67.8 ± 3.2 *
POST - LESION		
45	57.7 ± 3.8	66.5 ± 4.9 *

* $P < 0.001$

HISTOLOGIA

El análisis Histológico (fig. 2) mostró que, en los 2 animales lesionados con 4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de ácido Kaínico se produjo la pérdida total de neuronas en el nivel posterior 4.5, donde fué el sitio de inyección. En este caso, también se observó difusión a regiones laterales a la formación reticular medial, encontrándose muerte celular en el campo tegmental lateral y el núcleo motor del trigémino. Un efecto similar se observó en el plano antero posterior.

En relación a los 7 gatos lesionados con 1 $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ de ácido Kaínico, se encontró una destrucción parcial bilateral del 60.6% de la FRP, en comparación a los cerebros controles. En ambos casos se encontró gliosis en los sitios de inyección.

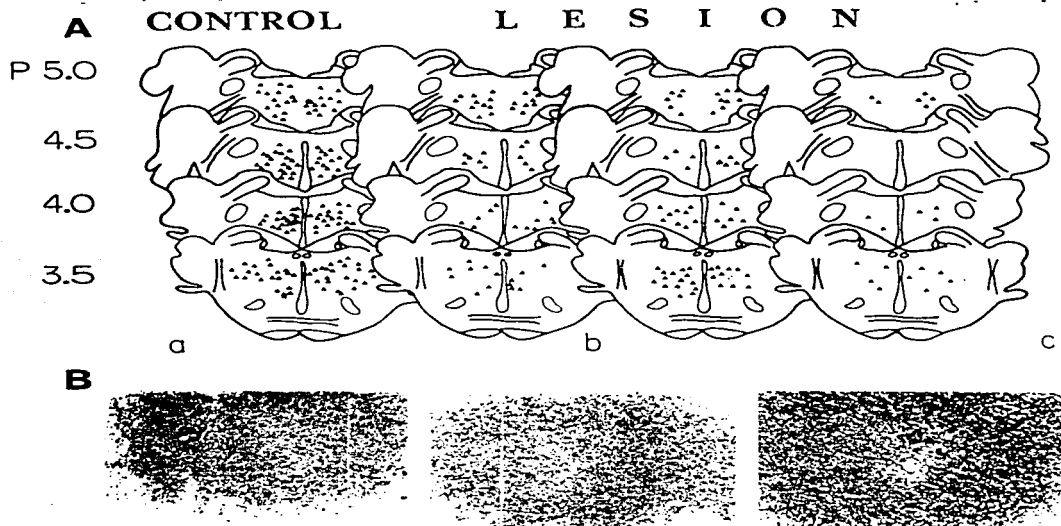


FIG. 2. A: representación esquemática de cortes coronales a nivel del puente, comparando el número de células (triángulos) de a) un gato control, b) 2 ratos lesionados con $1 \mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ de ácido kaínico y uno lesionado con $4 \mu\text{g}/1 \mu\text{l}$ (c). - B: fotografías tomadas en el plano posterior - 4.5 mostrando secciones histológicas correspondientes a los dibujos superiores.

PROTOCOLO 2

Durante este experimento, se registró la actividad unitaria de 49 células de la formación reticular medial. Dos de ellas no presentaron actividad espontánea, estando activas únicamente durante el movimiento y corresponden a las células tipo 1, según la clasificación de Siegel y McGinty (1976). Todas las demás células, a excepción de una, que disparaba en conjunto con movimientos oculares, estuvieron relacionadas con movimientos corporales durante la vigilia. Asimismo, dichas células presentaron escasa actividad durante el sueño de ondas lentas, y ésta fué en espigas aisladas, cuando se llegó a presentar. En la figura 3 se muestra una porción de un registro polisomnográfico, en el cual también se registró la actividad unitaria de una célula de la FRP. Se puede observar el patrón típico de actividad de dichas células, es decir, un aumento paulatino en su frecuencia de disparo, conforme el animal transita del sueño lento al sueño MOR. La figura 4, muestra fotografías tomadas del osciloscopio, en las cuales se observa la ausencia de actividad unitaria durante sueño lento, el comienzo de actividad durante sueño lento con PGOS y una gran frecuencia de disparo durante el sueño MOR. Cabe hacer notar que dicho patrón de disparo fue en ráfagas con un número de espigas variable, lo cual se reflejó en los valores obtenidos para las desviaciones estándar.

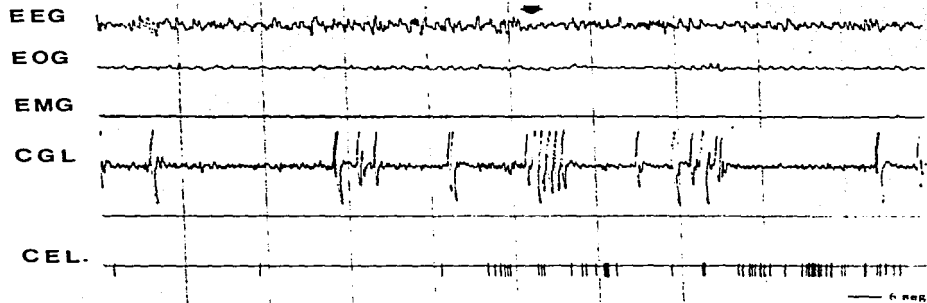
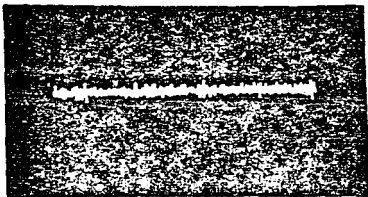
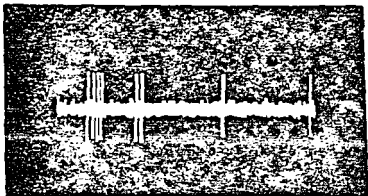


Fig.3. Porción de un registro polisomnográfico en el que se observa el aumento en la frecuencia de disparo de una célula de la FRP cuando se presenta el sueño MOR.

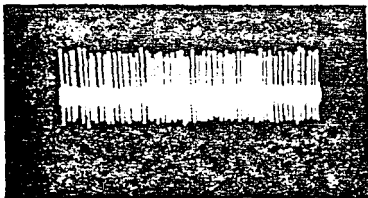
EEG, electroencefalograma; EOG, movimientos oculares; EMG, electromiograma; CGL, cuerpo geniculado lateral; Cel., célula. La flecha indica el inicio del sueño MOR.



SL



SL +
PGO



MOR

100 μ V
200 msec.

FIG. 4. Actividad característica de una célula de la FRP durante el sueño lento y el sueño MOR. Se puede observar el inicio de disparo durante el sueño lento con PGO, una gran actividad durante el sueño MOR.

De las 47 células registradas, 26 (55.3%) permanecieron sin cambios significativos en su frecuencia de disparo cuando se estimuló auditivamente durante el sueño MOR. Asimismo, 21 células (44.6%) sufrieron cambios significativos en sus patrones de disparo, a consecuencia de dicho estímulo. De éstas, 18 aumentaron su frecuencia de disparo, mientras que 3 presentaron una disminución.

CELULAS REGISTRADAS EN PAPEL

La Tabla IV muestra la media y desviación estándar de la frecuencia de disparo de cada una de las células que aumentaron su actividad durante los períodos de sueño MOR estimulados auditivamente. Dicho aumento fue de un $43.3 \pm 16.8\%$. Asimismo, en la Tabla V se encuentran agrupadas las células en las que el estímulo no produjo cambios.

a) Células que presentaron cambios en la frecuencia de disparo.

La frecuencia promedio de disparo para el grupo de células durante los períodos de sueño MOR controles fue de 23.7 ± 22.6 espigas/10 seg; con la estimulación auditiva la frecuencia aumentó a 37.0 ± 29.5 espigas/10 seg. Este aumento en la frecuencia de disparo fue estadísticamente significativo ($t = 3.8$, $gl = 9$, $p < 0.001$).

La Figura 5 compara la actividad unitaria registrada durante un período de sueño MOR sin estimular con la actividad de la misma célula durante un período estimulado auditivamente. Se puede observar que el estímulo, administrado a partir de sueño lento con PGOs, desencadenó el disparo de actividad

unitaria y poco después el sueño MOR. Asimismo se observa el aumento en la frecuencia de disparo de dicha célula. Además, se encontró que dos células disminuyeron su frecuencia de disparo durante la estimulación auditiva. La primera de ellas disminuyó de 16.4 ± 8.07 a 11.5 ± 5.6 espigas/10 seg, mientras que en la segunda, la disminución fue de 5.17 ± 6.9 a 2.43 ± 3.26 .

b) Células que no presentaron cambios en la frecuencia de disparo.

Por otra parte, en las células que no se observaron cambios individuales mayores del 25% (n = 17), tampoco se encontraron diferencias significativas cuando fueron analizadas como grupo. Así, la media de la frecuencia de disparo durante los períodos de sueño MOR controles fue de 42.8 ± 40.3 espigas/10 seg, y de 43.1 ± 42.8 espigas/10 seg durante los períodos estimulados (t = .17 NS) (ver tabla V).

TABLA IV

CELULA	CONTROL	ESTIMULO
1	9.9 ± 1.5	32.0 ± 2.8
2	25.67 ± 11.35	65.5 ± 62.0
3	10.43 ± 3.42	21.6 ± 6.38
4	69.4 ± 41.5	87.0 ± 42.5
5	17.4 ± 19.9	28.4 ± 36.1
6	56.30 ± 68.9	79.69 ± 77.05
7	5.5 ± 2.0	9.0 ± 4.0
8	32.2 ± 15.6	39.3 ± 17.05
9	5.67 ± 3.9	8.76 ± 4.5
10	5.12 ± 1.5	8.51 ± 2.0

Frecuencia de disparo ($X \pm DS$, espig/10 seg) de células registradas en papel, durante periodos MOR controles y estimulados auditivamente. Se puede observar el aumento en la frecuencia de disparo producida por dicho estímulo.

TABLA V

CELULA	CONTROL	ESTIMULO
1	10.47 ± 14.64	10.0 ± 12.02
2	18.04 ± 11.81	20.31 ± 19.56
3	21.6 ± 43.3	24.2 ± 34.7
4	10.0 ± 27.2	11.9 ± 31.8
5	9.5 ± 24.7	10.8 ± 23.8
6	40.03 ± 26.14	35.3 ± 27.23
7	61.77 ± 144.09	67.67 ± 101.53
8	19.17 ± 21.20	16.45 ± 17.57
9	94.33 ± 105.2	93.48 ± 89.61
10	108.17 ± 72.15	100.32 ± 74.06
11	50.7 ± 19.2	43.7 ± 19.7
12	11.8 ± 7.2	13.4 ± 6.7
13	41.8 ± 17.1	37.04 ± 19.86
14	27.1 ± 13.5	22.4 ± 10.8
15	45.2 ± 19.3	44.0 ± 22.0
16	8.9 ± 3.4	7.1 ± 4.5
17	150.0 ± 75.8	165.3 ± 72.8

Frecuencia de disparo ($X \pm DE$, espigas/10 seg) de las células registradas en papel, que no mostraron cambios significativos a consecuencia del estímulo auditivo.

CONTROL

EEG
MO
EMG
CG
CEL.

INT.

ESTIMULO

EST.

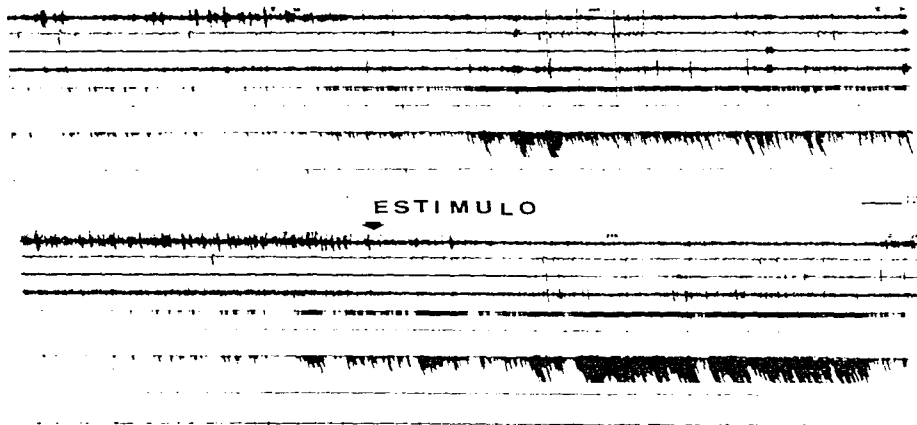


FIG. 5. Comparación de un período de sueño MOR control y uno estimulado auditivamente. En este último el estímulo se aplicó a partir de sueño de ondas lentas. Obsérvese el aumento en la frecuencia de disparo de una célula de la FRP a consecuencia del estímulo auditivo. EEG=Electroencefalograma; MO=Movimientos oculares; EMG=Electromiograma; CG=Cuerpo geniculado; Cel=Célula; Int=Integrador de pulsos; Est=Estímulo auditivo.
↓=Inicio del sueño MOR.

CELULAS REGISTRADAS EN COMPUTADORA

En la Tabla VI se encuentran los valores de los parámetros analizados por computadora, para cada una de las células en las que el estímulo auditivo durante el sueño MOR produjo un aumento en la frecuencia de disparo. El aumento observado fue de un $47.12 \pm 15\%$. Asimismo, en la Tabla VII se encuentran los valores de las células en las que el estímulo no produjo cambios.

a) Células que presentaron cambios en la frecuencia de disparo

La frecuencia promedio de disparo para el grupo de células durante los periodos de sueño MOR controles fue de 11.6 ± 19.6 espigas/ráfaga; durante los periodos estimulados dicha frecuencia fue de 19.5 ± 26.8 espigas/ráfaga ($t = 2.8$, $gl = 7$, $p < 0.02$). Este aumento en la frecuencia de disparo, fue concomitante a una duración más prolongada de las ráfagas: la duración media durante los periodos de sueño MOR controles fue de $.24 \pm .30$ seg, mientras que durante los periodos estimulados ésta fue de $.45 \pm .37$ seg ($t = 3.06$, $gl = 7$, $p < 0.02$).

Por otra parte, el análisis de los intervalos inter ráfaga mostró que estos disminuyeron en 5 células (células 1 a 5 de la tabla VI) durante los periodos de sueño MOR estimulados. Para dichos periodos los intervalos fueron de $.67 \pm 5.1$ seg, mientras que durante los controles, estos fueron de $.94 \pm .51$ seg ($t = 3.46$, $gl = 4$, $p < 0.02$). Por el contrario, en las células 6 y 7 de la misma tabla se observó un aumento en los intervalos del 26% y 67.3%, respectivamente.

En relación al número de ráfagas por segundo, se encontró

que aunque éstas tendieron a sufrir un aumento en algunas células (Células 1 a 4 de la Tabla VI) y a disminuir en otras (Células 4 a 8), durante los periodos MOR estimulados, las diferencias con el control no fueron estadísticamente significativas.

La figura 6, compara los histogramas de frecuencia de disparo de tres células durante periodos de sueño MOR estimulados con sus respectivos controles, observándose un notorio aumento en la actividad unitaria a consecuencia de la estimulación auditiva. Dicho aumento también se observa en fotografías tomadas directamente del osciloscopio (fig. 7) Asimismo, la figura 8, es un histograma de frecuencias (célula 4) tomado a partir de sueño lento, mostrando el aumento paulatino de actividad unitaria conforme se instala el sueño MOR y un aumento aún mayor cuando se estimula auditivamente.

Con el análisis por computadora, también se encontró que una célula (9, Tabla VI) disminuyó en un 45% el número de espigas por ráfaga, así como las ráfagas por segundo y la duración por ráfaga, a consecuencia del estímulo auditivo.

TABLA VI

CELULA		ESPIGAS/ RAFAGA	RAFAGAS/ SEGUNDO	DURACION/ RAFAGA (seg)		INTERVALO INTER RAFAGA (seg)	
1	C	3.00 ± 1.61	1.12 ± .79	.13 ± .12	.75 ± .73		
	EA	6.06 ± 5.44	1.79 ± .85	.26 ± .26	.29 ± .19		
2	C	3.27 ± 2.00	1.00 ± .82	.13 ± .11	.85 ± .86		
	EA	6.20 ± 6.16	1.54 ± .85	.25 ± .25	.40 ± .86		
3	C	9.28 ± 12.38	.45 ± .59	.19 ± .24	1.95 ± 4.06		
	EA	16.77 ± 59.8	.69 ± .80	.32 ± .39	1.22 ± 1.56		
4	C	3.29 ± 1.79	.47 ± .67	.13 ± .09	1.89 ± 2.7		
	EA	7.93 ± 25.7	.69 ± .77	.60 ± .22	1.24 ± 1.54		
5	C	4.32 ± 2.84	2.27 ± .88	.15 ± .15	.29 ± .18		
	EA	18.4 ± 22.7	1.17 ± .97	.66 ± .83	.20 ± .07		
6	C	6.26 ± 6.72	.31 ± .53	.15 ± .22	3.14 ± 4.24		
	EA	8.76 ± 17.3	.26 ± .52	.20 ± .43	3.96 ± 5.89		
7	C	4.14 ± 4.41	.35 ± .73	.11 ± .07	2.45 ± 4.21		
	EA	7.43 ± 7.14	.23 ± .62	.16 ± .21	4.10 ± 6.82		
8	C	71.41 ± 270	.80 ± .93	.99 ± 2.19	.26 ± .14		
	EA	136.29 ± 284.3	.51 ± .79	1.54 ± 2.99	.22 ± .13		
9	C	4.56 ± 2.83	.07 ± .29	.17 ± .15	10.44 ± 10.6		
	EA	2.50 ± 1.02	.02 ± .17	.06 ± .03	30.56 ± 46.6		

Parámetros de disparo ($X \pm DE$), de las células registradas en computadora, durante períodos MOR controles (C) y estimulados auditivamente (EA). Las 8 primeras células sufrieron un aumento en el número de espigas por ráfaga, mientras que la última tuvo una disminución.

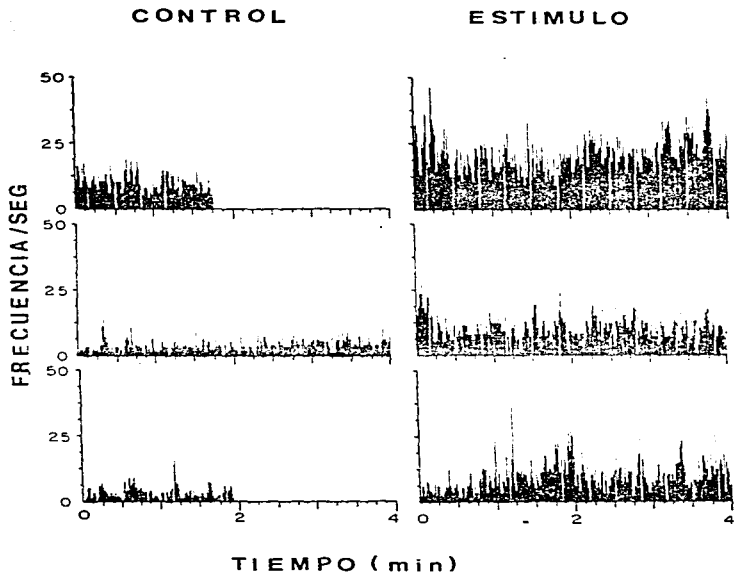
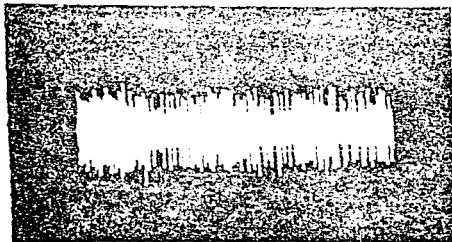


FIG. 6. Histogramas de frecuencia de 3 células que aumentaron su actividad unitaria a consecuencia de la estimulación auditiva, en comparación a sus respectivos controles.

CONTROL



ESTIMULO



100 μ V
200 mseg.

FIG. 7. Fotografías en las que se compara la actividad unitaria durante un fragmento de sueño MCK control y uno estimulado auditivamente. Obsérvese en este último el aumento en la frecuencia de disparo.

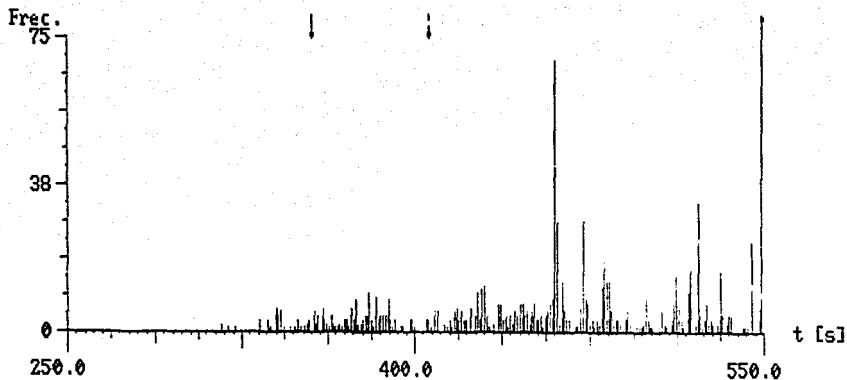


FIG. 8. Histograma de frecuencias mostrando el aumento paulatino en la actividad unitaria durante la transición de sueño lento a sueño MOR. La primera flecha indica la aparición de este último; la segunda, el inicio de la estimulación auditiva. Obsérvese el aumento en la frecuencia de disparo durante la estimulación.

- b) Células que no mostraron cambios en la frecuencia de disparo.
En las células que no se observaron cambios individuales en la frecuencia de disparo mayores del 25% (n = 8), tampoco se encontraron cambios en los otros parámetros analizados. Es decir, tanto el número de ráfagas como su duración y los intervalos inter ráfagas mostraron valores similares a su actividad control durante los períodos estimulados. Cuando fueron analizadas como grupo, estas células tuvieron una frecuencia de disparo, durante los controles, de 12.16 ± 10.7 espigas/ráfaga; mientras que en los períodos estimulados ésta fue de 11.9 ± 10.1 (t = .51, gl = 8, NS), ver Tabla VII.

TABLA VII

CELULA		ESPIGAS/ RAFAGA	RAFAGAS/ SEGUNDO	DURACION/ RAFAGA (seg)	INTERVALO INTER RAFAGA (seg)
1	C	4.35 ± 3.61	.15 ± .38	.16 ± .12	5.57 ± 6.61
	EA	4.21 ± 5.57	.15 ± .44	.13 ± .18	5.68 ± 8.47
2	C	14.34 ± 45.69	.37 ± .63	.22 ± .54	2.41 ± 3.55
	EA	14.11 ± 32.01	.50 ± .73	.23 ± .38	1.75 ± 2.78
3	C	35.76 ± 62.87	1.17 ± 1.01	.64 ± .87	.21 ± .08
	EA	34.55 ± 59.9	1.19 ± 1.00	.61 ± .84	.21 ± .05
4	C	4.12 ± 4.13	.19 ± .51	.08 ± .10	4.70 ± 5.52
	EA	4.64 ± 3.87	.21 ± .56	.09 ± .13	4.24 ± 8.12
5	C	9.07 ± 9.93	1.62 ± .93	.37 ± .41	.24 ± .11
	EA	9.19 ± 11.73	1.61 ± .86	.27 ± .36	.25 ± .13
6	C	5.48 ± 4.20	.14 ± .42	.14 ± .18	6.6 ± 9.8
	EA	4.36 ± 3.69	.18 ± .41	.16 ± .13	4.3 ± 5.4
7	C	6.26 ± 6.72	.31 ± .53	.15 ± .22	3.14 ± 4.24
	EA	8.71 ± 9.50	.26 ± .52	.20 ± .23	3.9 ± 5.8
8	C	18.11 ± 23.41	1.25 ± .99	.85 ± .83	.50 ± .35
	EA	15.90 ± 20.38	1.18 ± 1.23	.79 ± .85	.55 ± .40

Parámetros de disparo de células registradas en computadores, que no sufrieron cambios significativos a consecuencia del estímulo auditivo.
C = control, EA = estímulo auditivo.

HISTOLOGIA

El análisis histológico mostró que las células registradas estuvieron localizadas dentro de la formación reticular pontina (fig.9)

FIGURA 9

FIG. 9 Esquema de un corte sagital del tallo cerebral, a nivel lateral 1.6 mostrando los sitios de registro de las células que aumentaron su frecuencia de disparo a consecuencia del estímulo auditivo (círculos). También se muestra la localización de las 3 células que redujeron dicha frecuencia (cuadros). En la parte superior izquierda, fotografía de un corte sagital en el que se observa la entrada de la cánula a la FRP.
LC - Locus coeruleus. 7 - genu del nervio facial. NR - núcleo rojo OI - oliva inferior.

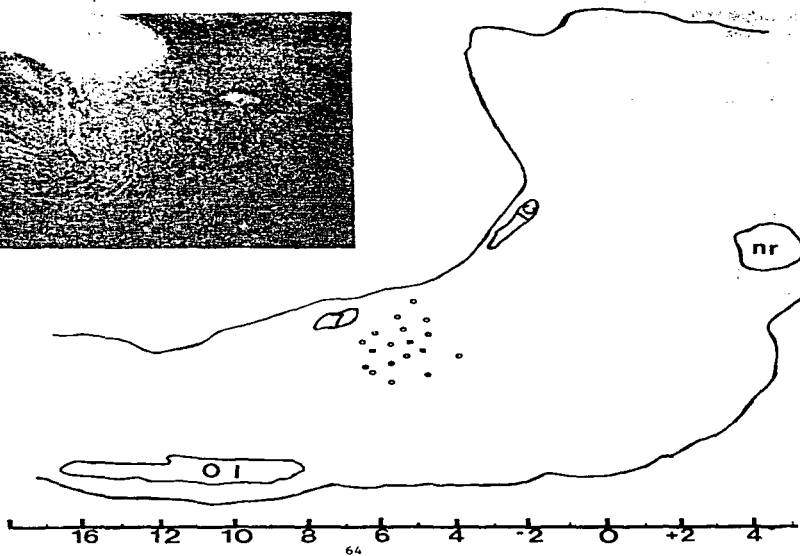


FIG. 9

RESUMEN DE LOS RESULTADOS

Los resultados de este trabajo mostraron que la estimulación auditiva y somática durante el sueño MOR indujo un aumento en la duración de dicha fase de sueño, así como en la densidad de espigas PGO. Dichos resultados demuestran que la estimulación sensorial es capaz de modular a las estructuras que normalmente intervienen en la producción de la fenomenología que da como resultado al sueño MOR.

Por otra parte, ya que la lesión de la formación reticular pontina impidió el aumento del sueño MOR inducido por estimulación auditiva y somática, sugerimos que ambos estímulos sensoriales modulan la duración del sueño MOR a través de dicha estructura. Sin embargo, el aumento en la densidad de espigas PGO producido por estimulación auditiva continuó presentándose después de la lesión, hecho que demuestra que la densidad de espigas PGO y la duración del sueño MOR son independientes uno del otro.

Finalmente, la estimulación auditiva durante el sueño MOR fue capaz de producir cambios en la frecuencia de disparo de un grupo de células de la formación reticular pontina. Este hecho sugiere que la estimulación sensorial aumenta la duración del sueño MOR a través de incrementar los niveles de excitabilidad de dichas neuronas. Estos resultados serán discutidos ampliamente en la siguiente Sección.

DISCUSION

En primer término, los resultados de este trabajo confirmaron observaciones previas de que la estimulación auditiva y somática durante el sueño MOR produce un aumento en la duración de dicha fase de sueño, así como en la densidad de espigas PGO (Drucker-Colín y cols., 1983; Arankowsky y cols., 1986). Por otra parte, nuestro objetivo fué determinar la posible participación de la formación reticular pontina en la producción de este fenómeno. Para ello, decidimos lesionar dicha estructura con ácido kaínico, análogo del glutamato que produce degeneración de los cuerpos neuronales, pero respeta axones de paso y de terminación de células extrínsecas. La neurotoxicidad del ácido kaínico es un evento mediado a través de receptores que solo se encuentran localizados en los cuerpos celulares, razón por la cual las fibras adyacentes son insensibles a dicho ácido (Camochiaro y col., 1978).

Asimismo, existen células que son resistentes a la acción del ácido kaínico, como las del locus coeruleus (Sastre y col., 1981; Kohler y col., 1983). Por estas razones lo consideramos como una herramienta adecuada para producir lesiones con mayor especificidad que otros métodos.

En este sentido, encontramos, al igual que otros autores (Drucker-Colín y col., 1983; Sastre y col., 1981) que las lesiones con ácido kaínico de la FRP no producen ningún efecto sobre el sueño MOR. Es decir, no se afecta su duración, ni los eventos fásicos como las espigas PGO. Sin embargo, cuando se probaron los efectos de la estimulación sensorial, después de la lesión, no se observó ningún aumento del sueño MOR, aún después

de transcurrido mes y medio. Esta ausencia de efecto no fué debida a que la estimulación per se pierda su capacidad de aumentar la duración del SMOR cuando se administra repetidamente, ya que esta resultó eficaz en el grupo control, a través del tiempo. Por lo tanto, estos resultados sugieren que la integridad de la FRP es necesaria para que la estimulación sensorial induzca periodos MOR de mayor duración que los controles. Asimismo, se puede descartar la posibilidad de que la lesión haya producido daño inespecífico, ya que el ácido kaínico respeta las vías de paso.

Por otra parte, a pesar de que el estímulo sensorial no indujo prolongación del sueño MOR en el animal lesionado, éste sí fué capaz de seguir aumentando la densidad de espigas PGO. Este hallazgo demuestra que la densidad de espigas PGO y la duración del sueño MOR son eventos independientes uno del otro, y por lo tanto dichas espigas no juegan un papel importante en la generación de esta fase del sueño, como ha sido sugerido por Dement (1969). Otro hecho que sugiere la independencia de ambos parámetros es que la estimulación amigdalina, la cual incrementa las PGO, no altera la duración del sueño MOR (Calvo y col., 1987).

Ya que la actividad del cuerpo geniculado lateral puede ser modulada por estimulación somática (Melzack y col., 1968) y auditiva (Chalupa y col., 1975) el aumento observado en la densidad de espigas PGO podría ser la respuesta a dicha estimulación. Asimismo, se ha sugerido que las PGOs representan una respuesta de alerta como resultado de una activación

intrínseca de la formación reticular (Morrison y col., 1975). Esta idea surgió del hallazgo que la estimulación somática y acústica, a intensidades que producen el reflejo de sobresalto, podían provocar espigas PGO en el cuerpo geniculado lateral de gatos, durante la vigilia y las 2 fases de sueño (Bowker y col., 1976). Además de la PGO, dichos estímulos producen una contracción muscular y un movimiento ocular como respuesta, aun durante el sueño MOR.

De manera interesante, se ha encontrado una amplia distribución de células de la formación reticular pontina que proyectan a la médula espinal y que responden a estímulos auditivos con umbrales mayores de 90 dB. La respuesta de dichas células a la estimulación auditiva fué correlacionada con la respuesta motora de músculos que participan en el reflejo de sobresalto. Asimismo, las neuronas de la FRP estuvieron activas durante el movimiento (Wu y col., 1988).

Tanto el trabajo de Bowker y col. (1976) como el de Wu y col., (1988) sugieren que la estimulación sensorial, a intensidades que producen el reflejo de sobresalto, es capaz de inducir también un aumento en la duración del MOR, como ya hemos demostrado. Cabe hacer notar que la información somatosensorial llega directamente a la formación reticular bulbar y pontina a través del tracto espinoreticular, mientras que la estructura de la vía auditiva que envía la mayor parte de proyecciones a la FRP es el núcleo del lemnisco lateral (Brodal, 1969; Irvine y col., 1983).

En este punto, resulta importante reconsiderar la participación de la FRP en los mecanismos subyacentes al sueño

MOR. Dos de las evidencias que debilitan la hipótesis de que la FRP es el "centro" generador del sueño MOR, han sido, primero, que su actividad unitaria no es selectiva para esa fase de sueño (Siegel y cols., 1977a), y en segundo término, que la lesión de dicha estructura no afecta en nada los parámetros del sueño MOR (Sastre y cols., 1981; Drucker Colín y cols., 1983).

En relación al primer punto, el hecho de que las células de la FRP también se activen durante el movimiento, no excluye que participen en mecanismos de sueño. En este trabajo, al igual que en los 2 arriba mencionados, la lesión con AK de la FRP no produjo ningún trastorno de tipo motor, lo cual era de esperarse, dados los antecedentes. Asimismo, aunque la estimulación colinérgica (Baghdoyan y col., 1984; Baghdoyan y col., 1987) y eléctrica (Monti, 1970) de dicha estructura induce todos los parámetros del sueño MOR, la lesión de los cuerpos neuronales no impide su presentación normal (Drucker Colín y col., 1983; Sastre y col., 1981). Esto último sugiere que las células que participan en la generación del sueño MOR están ampliamente distribuidas en el tallo cerebral y que la pérdida de un grupo de esas neuronas no impide que otras lleven a cabo la función normal. Sin embargo, ya que la estimulación sensorial no produjo aumento del sueño MOR en el animal con lesión de la FRP, es de suponerse que la función de dicha estructura no puede ser reemplazada por otros grupos celulares para prolongar al sueño MOR.

En su conjunto, estos hechos sugieren que aunque la FRP no es indispensable ni selectiva en los mecanismos del sueño MOR (ni

en mecanismos motores), si juega un papel dentro del complejo fenómeno que da origen a dicha fase de sueño. Los resultados de este trabajo apoyan tal idea, ya que la estimulación sensorial fue incapaz de aumentar el MOR en el animal lesionado.

Como ya fue revisado en la introducción, existe una amplia distribución de células en el cerebro cuya actividad cambia (ya sea aumentando o disminuyendo) dependiendo del estado de vigilancia del animal. Ninguna de ellas se ha podido considerar como absolutamente selectiva en la producción del sueño MOR (Hobson y col., 1986, Sakai, 1988). Lo mismo ha ocurrido con el sinnúmero de factores hipnógenicos y neurotransmisores postulados como candidatos en la inducción y mantenimiento del sueño (Drucker-Colín y col., 1985, 1986; Inoué y col., 1988).

Estos hechos han dado origen a la modificación del punto de vista "localizacionista", es decir, el querer adjudicar una función a una estructura determinada, como ha ocurrido en el estudio del sueño. Actualmente se atribuye a la interacción de muchos grupos neuronales, más que la actividad de una sola estructura, como responsable de la producción del sueño MOR. Lo que quedaría por resolver, para los estudiosos del sueño, es la pregunta clave ¿Cómo se lleva a cabo dicha interacción?

Los resultados obtenidos en este trabajo en relación a la actividad unitaria de la FRP, sugieren un posible eslabón en la cadena de eventos subyacentes al sueño MOR.

En primer término, el análisis histológico así como la actividad unitaria característica, demostraron que las células estudiadas en este trabajo estuvieron localizadas en la FRP. Al igual que otros investigadores. (Siegel y col., 1977b)

encontramos que dichas células, además de estar activas durante el sueño MOR, también lo estuvieron durante el movimiento.

Por otra parte, se encontró que la estimulación auditiva durante el sueño MOR fué capaz de inducir cambios en la excitabilidad del 44% de las células registradas. La mayoría de ellas aumentaron su frecuencia de disparo (18 células), mientras que 3 lo disminuyeron. Estos cambios no fueron debidos a la respuesta sensorial inmediata de las células, sino que estuvieron distribuidas a lo largo de los periodos de sueño MOR. Efectos similares sobre la actividad unitaria de la FRP han sido encontrados durante la perfusión de carbacol (Shirozani y col., 1986). Asimismo, cuando el estímulo se presentó a partir de sueño lento con PGOs fue posible observar en algunas células, el inicio paulatino de su actividad y la presentación concomitante del sueño MOR. Este hecho podría explicar la disminución en la latencia de aparición del sueño MOR, cuando se estimula auditivamente en sueño lento con PGOs (Drucker-Colín y cols., 1983).

El efecto más relevante del estímulo sobre la actividad unitaria, fue el aumento de alrededor del 50% en el número de espigas por ráfaga de todas las células. Por lo tanto, estos resultados sugieren fuertemente que la estimulación sensorial durante el sueño MOR es capaz de inducir un aumento en la duración de dicha fase de sueño, a través de incrementar los niveles de excitabilidad de un grupo de neuronas de la formación reticular pontina.

Los resultados de este trabajo proporcionan nuevas evidencias

que apoyan la hipótesis (McGinty y col., 1982; Drucker-Colín, 1985, 1986) de que un nivel crítico de excitabilidad de la formación reticular pontina es necesario para que el sueño MOR se lleve a cabo. Dicha hipótesis se basa en la observación de que la infusión de cloranfenicol en la formación reticular pontina y mesencefálica, produce un aumento en el número de períodos MOR abortivos, que se ven acompañados de una reducción en la frecuencia de disparo de esas neuronas. Por el contrario, la estimulación colinérgica de la FRP, la cual induce períodos MOR de hasta una hora de duración, también produce un aumento concomitante en la frecuencia de disparo del 26% de las células estudiadas (Shiromani y col., 1986).

La formación reticular es una estructura que ha sido relacionada con múltiples funciones (Siegel, 1979), además de su participación en mecanismos de sueño. De aquí, se podría proponer que diferentes tipos de estímulos tanto endógenos como exógenos, que tengan acceso a dicha estructura y puedan modular sus niveles de excitabilidad, modulen a su vez la manifestación del sueño MOR.

En el caso de los estímulos exógenos podríamos mencionar factores como el aprendizaje, el contacto con medio ambiente "enriquecido" y la estimulación sensorial más específica. De hecho, los diferentes autores que han observado que el sueño es susceptible de ser modulado por estimulación sensorial, han propuesto, pero no demostrado, que esta se lleva a cabo a través de la formación reticular. Por ejemplo, la estimulación eléctrica de la piel, la cual induce sueño lento y acorta la latencia para la aparición del sueño MOR en el gato, es capaz de

influenciar la actividad unitaria de el bulbo y el puente (Pompeiano y col., 1963). Asimismo, los efectos de la estimulación auditiva y vibratoria (Doneshka 1974), así como la vestibular (McGinty, 1985) sobre el sueño, han sido atribuidos a la formación reticular. Nuestro hallazgo de que la estimulación sensorial aumenta la frecuencia de disparo neuronal durante el SMOR es importante porque demuestra directamente que la FRP es la estructura mediadora de los efectos de dicha estimulación sobre el sueño.

Por otra parte, los experimentos que han relacionado el aprendizaje con el sueño MOR también proporcionan evidencias que involucran a la formación reticular en ambos procesos.

Bloch, en 1973, encontró que la estimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica de la rata, administrada durante el período de post adquisición de una tarea, mejoraba su retención. Sin embargo, los animales estimulados no presentaban el aumento del sueño MOR que se da normalmente después del aprendizaje (Bloch y cols., 1977). Este hecho sugirió que dicha estimulación desencadena una gran activación cerebral, la cual sería como un sustituto de sueño MOR, por lo que éste ya no aumenta después del aprendizaje. Un efecto similar se ha encontrado en humanos cuando se estimula auditivamente durante el sueño MOR posterior al aprendizaje de señales Morse (Guerrien y cols., 1989). En este caso, el grupo control fue sometido al aprendizaje pero no se estimuló, encontrándose en él un aumento en la retención así como en la duración del sueño MOR. En el grupo estimulado auditivamente, la retención fue aún mayor que en

el control, aunque ya no se observó el aumento del sueño MOR.

Como conclusión, los autores proponen que la estimulación auditiva (al igual que la estimulación de la formación reticular) intensifica la activación cerebral característica de esta fase de sueño, por lo cual el aumento del sueño MOR posterior al aprendizaje es innecesario.

En términos generales, nuestros experimentos tanto de lesión como de actividad unitaria proporcionan evidencia acerca de la estructura y el mecanismo fisiológico que pueden estar mediando los efectos observados en los trabajos de aprendizaje que acabamos de mencionar. Asimismo, nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la estimulación sensorial, así como el aprendizaje modulan al sueño MOR, intensificando la actividad cerebral propia de esa fase del sueño.

CONSIDERACIONES ACERCA DE LOS MECANISMOS GENERADORES DEL SUEÑO MOR: ACETILCOLINA Y EXCITABILIDAD CEREBRAL:

Por otra parte, reconsiderando la literatura, podemos proponer un mecanismo endógeno que por sí mismo induzca los cambios de excitabilidad necesarios para que el sueño MOR se consolide.

Existe abundante evidencia de que el sueño MOR depende de mecanismos colinérgicos. Dichos estudios han ido desde la administración sistémica hasta la inyección intracerebral de agonistas y antagonistas de acetilcolina (Hernández Peón y col., 1964; Jouvet, 1962; Silverman y col., 1980; Baghdoyan y col., 1983, 1987). Asimismo el sueño MOR fisiológico ó inducido por colinomiméticos es impedido por bloqueadores muscarínicos como atropina y escopolamina. Aun más, recientemente se demostró que la inyección en la FRP de agonistas específicos para receptores muscarínicos M_2 como la Oxotremorina-M inducen el sueño MOR con todos sus componentes. El agonista M_1 no indujo ningún efecto (Velázquez y col., 1989).

Una evidencia más que señala la importancia de la acetilcolina, es que los cuatro elementos más conspicuos del sueño MOR (desincronización cortical, movimientos oculares, espigas PGO y atonia muscular) pueden ser producidos de manera independiente por estimulación colinérgica de distintos grupos neuronales del tallo cerebral (Van Dongen y col., 1977; Domino y col., 1968; Sakai, 1980; Webster y col., 1988; Baghdoyan y col., 1983).

En relación a la FRP, aunque existía fuerte evidencia de que esta era colinoceptiva, se desconocía el origen de sus aferentes colinérgicas. Recientemente (Mitani y col., 1988; Quattrochi y col., 1989) fué publicado que los núcleos pedúnculo pontinos y laterodorsalis tegmenti son la fuente de proyecciones colinérgicas a dicha estructura.

En resumen, estos trabajos señalan que la transmisión colinérgica, mediada a través de receptores muscarínicos, es, en sí misma, suficiente para desencadenar el sueño MOR. Como ha sido demostrado, la transmisión colinérgica a través de receptores muscarínicos (tanto a nivel central como periférico) produce potenciales excitatorios postsinápticos, de manera lenta y sostenida, que en sí mismos no dan origen a potenciales de acción. Sin embargo, dichos PEPS facilitan la capacidad de respuesta neuronal a entradas excitatorias adicionales. Esta acción colinérgica es debida a la inactivación de canales de potasio sensibles a voltaje. Asimismo, algunos neuropéptidos (que también están involucrados en mecanismos de sueño) actúan de la misma manera (Brown, 1985; Halliwell, y cols., 1982; Nowak y cols., 1981).

En este sentido, resulta plausible proponer (Fig. 10) que la acetilcolina (así como algunos neuropéptidos), a través de la activación lenta de receptores muscarínicos inducen un aumento de excitabilidad en diferentes grupos neuronales del tallo cerebral (línea central). Este aumento en excitabilidad facilitaría su respuesta a señales provenientes de otras fuentes (activación o desactivación de otros posibles neurotransmisores y

neuromoduladores), dando así lugar al umbral necesario para la generación del sueño MOR. Asimismo, los factores exógenos como la estimulación sensorial y el aprendizaje pueden inducir o prolongar el sueño MOR modulando dichos niveles de excitabilidad.

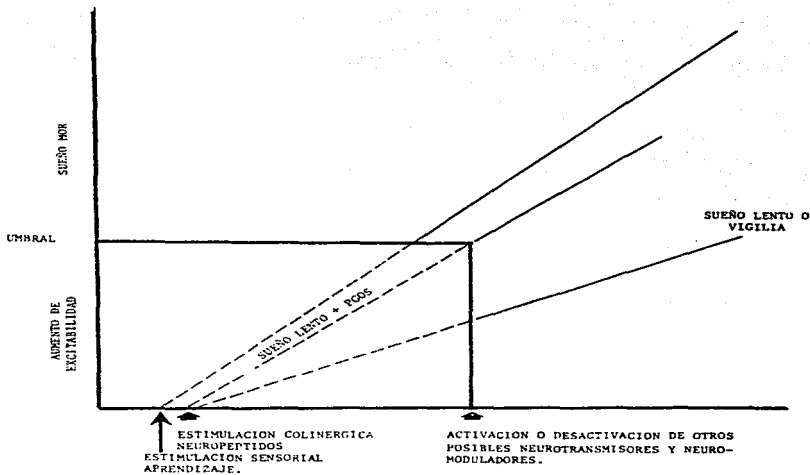


FIG. 10

REFERENCIAS

- Allison, T. Cortical and subcortical evoked responses to central stimuli during wakefulness and sleep. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 18: 131-139, 1965.
- Arankowsky-Sandoval, G., Próspero-García, O., Aguilar-Roblero, R. and Drucker-Colín, R. Cholinergic reduction of REM sleep duration is reverted by auditory stimulation. *Brain Res.* 375: 377-380, 1986.
- Arankowsky, G., Aguilar-Roblero, R., Próspero, O., Drucker-Colín, R. Rapid eye movement (REM) sleep and PGO spike density are increased by somatic stimulation. *Brain Res.* 400: 155-158, 1987.
- Aserinsky, E., Kleitman, N. Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena during sleep. *Science* 118: 273-274, 1953.
- Baghdoyan, H., Rodrigo-Angulo, M., McCarley, R. and Hobson, A. Site specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. *Brain Res.* 306: 39-52, 1984.
- Baghdoyan, H.A., Rodrigo-Angulo, M.L., McCarley, R.W. y Hobson, J.A. A neuroanatomical gradient in the Pontine tegmentum for the cholinceptive induction of desynchronized sleep signs. *Brain Res.* 414: 245-261, 1987.
- Benoit, O. y Bloch, V. Seuil d'excitabilité réticulaire et sommeil profond chez le chat. *J. Physiol.* 52: 17-18, 1960.
- Bloch, V. L'activation cérébrale et la fixation mnésique. *Arch. Ital. Biol.* 3: 577-590, 1973.
- Bloch, V., Hennevin, E. y Leconte, P. Interaction between post trial reticular stimulation and subsequent paradoxical sleep in memory consolidation processes. En: *Neurobiology of sleep and memory*, 255-272. Drucker-Colín, R. y McGaugh, J. Eds. New York, Academic Press.
- Bonvallet, M., Sigg, B. Etude électrophysiologique des afférences vagales au niveau de leur pénétration dans le bulbe. *J. Physiol.*, 50: 63-74, 1958.
- Bowker, R., Morrison, A. The startle reflex and PGO spikes. *Brain Res.* 102: 185-190, 1976.
- Brodal, A. *Neurological anatomy in relation to clinical medicine.* Oxford Univ. Press, 1969.

- Brown, D.A. Slow cholinergic excitation: a mechanism for increasing neuronal excitability. En: Neurotransmitters in action. David Bousfield (Ed.) Elsevier Biomedical Press. 1985 pp. 55-64.
- Brooks, D., Bizzi, E. Brain stem electrical activity during deep sleep. Arch. Ital. Biol. 101: 648-665, 1963.
- Butler, S. y Smith, C. Brief Ps and retardation of learning performance. Sleep. Res. 10: 125, 1981.
- Calvo, J.M. y Fernández-Guardiola, A. Phasic activity of the basolateral amygdala, cingulate gyrus and hippocampus during REM sleep. Sleep. 7: 202-210, 1984.
- Calvo, J.M., Badillo, S., Morales Ramirez, M. y Palacios Salas, P. The role of the temporal lobe amygdala in ponto-geniculo-occipital activity and sleep organization in cats. Brain Res. 403: 22-37, 1987.
- Campachiaro, P. y Coyle, J.T. Ontogenetic development of kainate neurotoxicity: correlates with glutamatergic innervation. Proc. Natl. Acad. Sci. 75: 2025-2029, 1978.
- Carli, G., Zanchetti, A. A study of pontine lesions suppressing deep sleep in the cat. Arch. Ital. Biol. 103: 751-788, 1965.
- Clemente, C., Sterman, M. y Wyrwicka, W. Forebrain inhibitory mechanisms: conditioning of basal forebrain induced EEG synchronization and sleep. Exp. Neurol. 7: 404-417, 1963.
- Coenen, A.M. Learning followed by sleep and wakefulness: Effects on memory consolidation. Sleep Res. 4: 148, 1975.
- Chu, N. y Bloom, F. Activity patterns of catecholamine containing pontine neurons in the dorsolateral tegmentum of unrestrained cats. J. Neurobiol. 5: 527-544, 1974.
- Danguir, J. y Nicolaidis, S. Impairment of learned aversion acquisition following paradoxical sleep deprivation in the rat. Physiol. Behav. 17: 489-492, 1976.
- De Lima, A., Singer, W., The Brain stem projection to the lateral geniculate nucleus in the cat. Identification of cholinergic and monoaminergic elements. Jour. Comp. Neurol. 259: 92-121, 1987.
- Dement, W.C. The biological role of REM sleep. En: Sleep: Physiology and Pathology. A. Kales Ed. Lippincot, Philadelphia 245-265 (1969).

- Dement, W., Henriksen, S., Jacobs, B., Mitler, M. Biosgenic amines-phasic events and behavior. in: Pharmacology and future of man. Proc. 5th. Int. Congr. Pharmacol. San Francisco, 1972, vol. 4, pp. 74-79. Verlag. Karger, Basel.
- Dewan, J. The programing (P) hypothesis for REM sleep. En: sleep and dreaming. Hartmann, M.D., Little, Brown & Company. 7(2): 295-307, 1970.
- Drucker-Colin, R., Bowersox, S., McGinty, D. Sleep and medial reticular unit responses to protein synthesis inhibitors: Effects of chloramphenicol and thiamphenicol. Brain Res. 252: 117-127, 1982.
- Drucker-Colin, R., Bernal, J., Fernández, F., Morrison, A. Increasing PGO spike density by auditory stimulation increases the duration and decreases the latency of rapid eye movement (REM) sleep. Brain Res. 278: 308-312, 1983.
- Drucker-Colin, R. and Bernal Pedraza, J. Kainic acid lesions of gigantocellular tegmental field (FTG) does not abolish REM sleep. Brain Res: 272: 387-391, 1983.
- Drucker-Colin, R., Aguilar-Roblero, R. Arankowsky-Sandoval, G. Re-evaluation of the hypnogenic factor notion. En: Sleep: Neurotransmitters and Neuromodulators. Wauquier, A., Radulovacki, M., Monti, J., Gaillard, J. (Eds.) Raven Press, N.Y., USA, 1985.
- Drucker-Colin, R., Aguilar-Roblero, R. y Arankowsky Sandoval, G. Sleep factors released from brain of unrestrained cats: a critical appraisal. En: Neurochemical analysis of the conscious brain. Am N.Y. Acad. Sci. 449-459, 1986.
- Domino, E., Yamamoto, K y Dren, A. Role of cholinergic mechanisms in states of wakefulness and sleep. Prog. Brain Res. 28: 113-133, 1968.
- Domino, E., Stowiski, M. Effects of the cholinergic antisynthesis agent HC-3 on the awake sleep cycle of cat. Psychophysiology 7: 315-316, 1971.
- Doneshka, P. Electrophysiological studies into the changes of the phases of sleep after vibration and noise. Bull. Int. Physiol. 6: 83-88, 1974.
- Duysan-Peyrethon, D., Peyrethon, J. y Jouvét, M. Etude quantitative des phénomènes phasiques du sommeil paradoxal pendant après sa deprivation instrumentale. C.R. Soc. Biol. 161: 2530-2533 (1967).
- Favale, E., Loeb, C. y Manfredi, M. Cortical responses evoked by stimulation of the optic pathways during natural sleep and arousal. Arch. Int. Physiol. 72: 221-228, 1964.

- Fishbein, U., Kastaniotis, C. y Chattman, D. Paradoxical sleep: prolonged augmentation following learning. *Brain Res.* 79: 61-75, 1974.
- Flandrin, J.M., Courjon, J., Jeannerod, M. and R. Schmid. Vestibulo-ocular responses during the states of sleep in the cat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 46: 521-530, 1979.
- Gastaut, H., Bert, J. Electroencephalographic detection of sleep induced by repetitive sensory stimuli. In: *On the nature of sleep.* (Woestenholme, G. and O'Connor, C. eds), p. 260-283. Lonan: Churchill, 1961.
- Groves, P.M., Wilson, C. J. and Boyle, R.D., Brain stem pathways, cortical modulation and habituation of the acoustic startle response. *Behav. Biol.* 10: 391-418, 1974.
- Guerrien, A., Dujardin, K., Mandai, O., Sockeel, P. y Leconte, P. Enhancement of memory by auditory stimulation during postlearning REM sleep in humans. *Physiol. & Behav.* 45: 947-950, 1989.
- Halliwell, J. y Adams, P. Voltage clamp analysis of muscarinic excitation in Hippocampal neurons. *Brain Res.* 250: 71-92, 1982.
- Hammond, G.R., Lesions of pontine and medullary reticular formation and prestimulus inhibition of the acoustic startle reactions in rats. *Physiol. Behav.* 10: 239-243, 1973.
- Hartmann, E. The 90 minute sleep-dream cycles. *Arch. Gen. Psychiat.* 18: 280-286, 1968.
- Henley, K., Morrison, A. A Re evaluation of the effects of lesions of the pontine tegmentum and locus coeruleus on phenomena of paradoxical sleep in the cat. *Acta Neurobiol., exp.* 34: 215-232, 1974.
- Hennevin, E., Hars, B. y Bloch, V. Improvement of learning by mesencephalic reticular stimulation during postlearning paradoxical sleep. *Behav. and Neural Biol.* 51: 291-206, 1989.
- Hernández-Peón, R., Chávez-Ibarra, P., Morgane, P., Timo-Laria, C. Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotional behavior. *Exp. Neurol.* 893-1111, 1963.
- Henriken, S.J., Jacobs, B.J., Dement, W. Dependence of REM sleep PGO spikes on cholinergic mechanisms. *Brain Res.* 48: 412-416, 1972.
- Hobson, J.A., McCarley, R.W., Pivik, Y., Freedman, R. Selective firing by cat pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. *J. Neurophysiol.* 37: 497-511, 1974a.

- Hobson, J.A. The cellular basis of sleep cycle control. En: *Advances in sleep research* Vol. 1: Spectrum Publications, Inc. 217-249, 1974b.
- Hobson, A., Goldberg, M., Vivaldi, E., Riew, D. Enhancement of desynchronized sleep signs after pontine microinjection of the muscarinic agonist Bethanechol. *Brain Res.* 275: 127-136, 1983.
- Hobson, A., Lydic, R. y Baghdoyan, H. Evolving concepts of sleep cycle generation: From brain centers to neuronal populations. *The Behav. and Brain Sci.* 9: 371-448, 1986.
- Huttenlocher, P.R. Effects of state of arousal on click responses in the mesencephalic reticular formation. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol* 12: 819-827, 1960.
- Inoué, S., Kimura, M., Honda, K. Sleep peptides: General and comparative aspects. En: *Sleep peptides, basic and clinical approaches.* Inoué, S. y Helment, D. Eds. Springer Verlag, 1988.
- Irvine, F. y Jackson, G. Auditory input to neurons in mesencephalic and rostral pontine reticular formation: an electrophysiological and horseradish peroxidase study in the cat. *J. of Neurophysiol.* 49: 1319-1333, 1983.
- Ito, K. y McCarley, R. Alterations in membrane potential and excitability of cat medial pontine reticular formation neurons during changes in naturally occurring sleep-wake states. *Brain Res.* 292: 169-175, 1984.
- Jeannerod, M. Saccade correlated events in the lateral geniculate body. *Bibl. Opthal.* 82: 189-198, 1972.
- Jones, B., Harper, S., Halaris, A. Effects of locus coeruleus lesions upon cerebral monoamine content, sleep-wakefulness states and the response to amphetamine in the cat. *Brain Res.* 124: 47-496, 1977.
- Jouvet, M., Michel, F. and Courjon, J. Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, 153: 1024-1028, 1959.
- Jouvet, M. and Michel, F. Declenchement de la "phase paradoxale" du sommeil par stimulation du tronc cérébrale chez le chat intact et mesencephalique chronique. *C.R. Soc. Biol.* 154: 636-641, 1960.
- Jouvet, M. Recherches sur les structures nerveuses et les mecanismes responsables des différents phases du sommeil physiologique. *Arch. Ital. Biol.* 100: 125-206, 1962.

- Jouvét, M. and Delorme, J.F. Locus coeruleus et sommeil paradoxal. C.R. Soc. Biol. 159: 895-899, 1965.
- Jouvét, M. Neurophysiology of the states of sleep. Physiological Reviews 47: 117-177, 1967.
- Jouvét, M. Biogenic Amines and the states of sleep. Science 163: 32-41, 1969.
- Jouvét, M. and Moruzzi, G. Ergebnisse der Physiologie, Springer-Verlag, 1972.
- Jouvét, M. Does a Genetic programming of the brain occur during paradoxical sleep? En: Cerebral correlates of conscious experience. Buser and Rougeul (Editeurs) Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1978.
- Kanamori, N., Sakai, K. and Jouvét, M. Neuronal activity specific to paradoxical sleep in the ventromedial medullary reticular formation of unrestrained cats. Brain Res. 185: 1-5, 1980.
- Kartayama, Y., De Witt, D., Becker, D. and Hayes, R. Behavioral evidence for cholinceptive pontine inhibitory area: Descending control of spinal motor output and sensory input. Brain Res. 296: 241-262, 1984.
- Kiyono, S., Seo, M. and Shibagaki, M. Effects of rearing environments upon sleep waking parameters in rats. Physiol. Behav. 26: 391-394, 1981.
- Kohler, C. y Schwarcz, R. Comparison of ibotenate and kainate neurotoxicity in rat brain: a histological study. Neuroscience 8: 819-835, 1983.
- Lécas, J.C. Changes in paradoxical sleep accompanying instrumental learning in the cat. Neurosci. Lett. 3: 341-355, 1976.
- Lécote, P. y Hennevin, E. Caractéristiques temporelles de l'augmentation du sommeil paradoxal consécutif à l'apprentissage chez le rat. Physiol. Behav. 11: 677-686, 1973.
- Machne, X., Calma, I. and Magoun, H.W. Unit activity of central cephalic brain stem in EEG arousal. J. Neurophysiol. 18: 547-558, 1955.
- Magnes, J., Moruzzi, G. and Pompeiano, O. Synchronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. Arch. Ital. Biol. 99: 33-67, 1961.

- McCarley, R.W. y Hobson, J.A. Single neuron activity in cat gigantocellular tegmental field: selectivity of discharge in desynchronized sleep. *Science* 174: 1250-1252, 1971.
- Mancía, M., Meulders, M. and Santibáñez, H. Synchronization de l'électroencéphalogramme provoquée par la stimulation visuelle répétitive chez le chat "médiapontin prétrigéminal" *Arch. Int. Physiol.* 67: 661-670, 1959.
- McGinty, D.J. y Harper, R.M. 5HT containing neurons: Unit activity during sleep. *Sleep Res.* 1: 27 1972.
- McGinty, D. y Siegel, J. Neuronal activity patterns during rapid eye movement sleep: relation to waking patterns. En: *Neurobiology of sleep and memory*, Academic Press (1977).
- McGinty, D.J. and Drucker-Colin, R. Sleep mechanisms: Biology and control of REM sleep. *Int. R. Neurobiol.* 23: 391-435, 1982.
- Melzack, R., Konrad, K. and Dubrovsky, B. Prolonged changes in visual system activity produced by somatic stimulation. *Exp. Neurol.* 20: 443-459, 1968.
- Mikiten, T., Niebvl, P. and Hendley, C. EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharges from the halamus of the cat. *Fed. Proc.* 20: 327, 1961.
- Mirmiran, M., Van Den Dungen H. y Uylings, H. Sleep patterns during rerving under different environmental conditions in juvenile rats. *Brain. Res.* 233: 287-298.
- Mitani, A., Ito, K., Hallanger, A., Wainer, B., Katroka, K. y McCarley, R. Cholinergic projections from the latero-dorsal and pedunculopontino tegmental nuclei to the pontine gigante cellular tegmental field in the cat. *Brain Res.* 451: 397-402, 1988.
- Mollica, A., Moruzzi, G. y Faquet, R. Décharges réticulaires induites por la réaction de veuil. *EEG Clin. Neurophysiol.* 5: 571-582, 1953.
- Monti, J.M. Effect of recurrent stimulation of the brain stem reticular formation on REM sleep in cats. *Exp. Neurol.* 28: 484-493, 1970.
- Nowak, L., Macdonald, R. Substance P decreases a potassium conductance of spinal cord neurons in Cell Culture. *Brain Res.* 214: 416-423, 1981.
- Mouze-Amady, M., Sockeel, P. and Leconte, P. Modification of REM sleep behavior by REMs contingent auditory stimulation in man. *Physiol. Behav.* 37: 543-548, 1986.

- Pompeiano, O. and Swett, J. EEG and behavioral manifestations of sleep induced by cutaneous nerve stimulation in normal cats. Arch. Ital. Biol. 100: 343-380, 1962.
- Pompeiano, O. and Swett, J.E. Actions of graded cutaneous and muscular afferent volleys on brain stem in the decerebrate, cerebellectomized cat. Arch. Ital. Biol. 101: 552-583, 1963.
- Puizillout, J. y Foutz, A. Vago aortic nerves stimulation and REM sleep, evidence for a REM triggering and a REM maintenance factor. Brain Res. 111: 181-184, 1976.
- Quattrochi, J., Mamelak, A., Madison, R., Macklis, D. y Hobson, A. Mapping neuronal inputs to REM sleep induction sites with carbachol fluorescent microspheres. Science, 249, 984-986, 1989.
- Rasmussen, K., Morilak, A. y Jacobs, B. Single unit activity of locus coeruleus neurons in the freely moving cat. I. During naturalistic behaviors and in response to simple and complex stimuli. Brain Res. 371: 324-323, 1986.
- Roitback, A. Electrical phenomena in the cerebral cortex during the extinction of orientation and conditional reflexes. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. Suppl. 13: 91-100, 1960.
- Rossi, G., Favale, T., Hara, A. Giussani and Sacco, G. Recherches on the nervous mechanisms underlying deep sleep in the cat. Arch. Ital. Biol. 99: 270-292, 1961.
- Rossi, G., Palestini, M., Pisano, M. y Rosadini, G. An experimental study of the cortical reactivity during sleep and wakefulness. En: Aspects anatomo-fonctionnels de la physiologie du sommeil. Jouviet, M. (Ed.) Centre National de la Recherche Scientifique. Lyon, Paris, 1965.
- Sakai, K., Kanamori, N. and Jouviet, M. Activités unitaires spécifiques du sommeil paradoxal dans la formation reticulée bulbaire chez le chat non restreint. C.R. Acad. Sc. Paris 289: 557-561, 1979.
- Saito, H., Sakai, K. Jouviet, M. Discharge patterns of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. Brain Res. 134:59-72, 1977.
- Sakai, K., and Jouviet, M. Brain stem PGO on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. Brain Res. 194: 500-505, 1980.

- Sakai, K. Some anatomical and physiological properties of ponto-mesencephalic tegmental neurons with special reference to the PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. The reticular formation revisited. Raven Press. pp 427-447, 1980.
- Sakai, K. Executive mechanisms of paradoxical sleep. Archives Italiennes de Biologie, 126: 239-257, 1988c.
- Sastre, J.P., Sakai, K., Jouvet, M. Are the gigantocellular tegmental field neurons responsible for paradoxical sleep? Brain Res. 229: 147-161, 1981.
- Shiromani, P. and Fishbein, W. Continuous pontine cholinergic microinfusion via mini-pump induces sustained alterations in rapid eye movement (REM) sleep. Pharmacol. Biochem. I. Behav. 25: 1253-1261, 1986.
- Shiromani, P., Armstrong, D., Gorcon, B., Hersh, L., Groves, P. y Guillin, C. Relation of pontine choline acetyltransferase immunoreactive neurons with cells which increase discharge during REM sleep. Brain Res. Bull. 18: 447-455, 1987.
- Shiromani, P., Armstrong, D., Berkowitz, A., Jeste, D. y Gillin, C. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactive somata in the feline brainstem: implications for REM sleep generation. Sleep 11(1): 1-16, 1988.
- Shute C. y Lewis, P. The ascending cholinergic reticular system. Neocortical, olfactory and subcortical projections. Brain 90: 497-520, 1967.
- Siegel, J., McGinty, D. Pontine reticular formation neurons: relationship of discharge to motor activity. Science 196: 678-680, 1977a.
- Siegel, J.M., McGinty, D.J. y Breedlove. Sleep and waking activity of pontine gigantocellular field neurons. Exp. Neurol. 56: 553-573, 1977b.
- Simon, R., Gershon, M., Brooks, D. The role of the raphé nuclei in the regulation of ponto-geniculo-occipital wave activity. Brain Res. 58: 313-330, 1973.
- Silberman, E., Vivaldi, E., Garfield, J., McCarley, R. and Hobson, A. Carbachol triggering of desynchronized sleep phenomena: enhancement via small volume infusions. Brain Res. 191: 215-224, 1980.
- Sitaram, N., Wyatt, S., Davison, S. y Gillin, J. REM sleep induction by physostigmine infusion during sleep. Science 191: 1281-1282, 1976.

- Sloan, M.A. The effects of rapid eye movement (REM) sleep on maze learning and aggression in the albino rat. *J. Psychiatr. Res.* 101-111, 1972.
- Smith, C., Young, J. y Young, W. Prolonged increases in paradoxical sleep during and after avoidance task acquisition. *Sleep* 3: 67-81, 1980.
- Smith, C. Sleep states and learning: a review of the animal literature. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 9: 157-168, 1985.
- Serman, M., Knauss, T., Lehman, D. y Clemente, C. Circadian sleep and waking pattern in the laboratory cat. *EEG Clin. Neurophysiol.* 19: 509-517, 1965.
- Thomas, J. y Benoit, O., Individualisation d'un sommeil à ondes et activité phasique. *Brain Res.* 5: 221-235 (1967).
- Trigona-Leisenger, M., Ciancia, F., Roy, J. y Block, V. Seuils auditifs de déclenchement des réponses électrodermales chez le chat. *Arch. Ital. Biol.* 115: 185-198, 1977.
- Van Dongen, P., Buehamp, C. y Cools, A. Atonia after carbachol microinjections near the locus coeruleus in cats. *Pharmacol. Biochem. & Behav.* 8: 527-532, 1977.
- Velazquez, J., Gillin, C., Shiromani, P. Effect of specific M₁, M₂ muscarinic receptor agonists on REM sleep generation. *Brain Res.* 503: 128-131, 1989.
- Villablanca, J. Behavioral and polygraphic study of sleep and wakefulness in chronic decerebrate cats. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 21: 562-577, 1966a.
- Wamsley, J.K., Levis, M.S., Young, W.S., Kuhar, M.J. Autoradiographic localization of muscarinic cholinergic receptors in rat brainstem. *J. Neurosci.* 1: 176-191, 1987.
- Webster, H. y Jones, B. Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Res.* 458: 285-302, 1988.
- Winters, W., Mori, K., Spooner, C., Kado, R. Correlation of reticular and cochlear multiple unit activity with auditory evoked responses during wakefulness and sleep. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 23: 539-545, 1967.
- Wu, M., Suzuki, S., Siegel, J. Anatomical distribution and response patterns of reticular neurons active in relation to acoustic startle. *Brain Res.* 457: 399-406, 1988.