

03086

2
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES Y DE POSGRADO DEL C.C.H.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

**Mecanismos Serotoninérgicos Reguladores
del Sueño en los Reptiles.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

P R E S E N T A :

Salvador Huitrón Reséndiz

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	IV
INTRODUCCION.....	1
ATONIA MUSCULAR.....	3
DESINCRONIZACION CEREBRAL.....	5
ACTIVIDAD PGO.....	6
MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS.....	8
SACUDIDAS MUSCULARES.....	10
IRREGULARIDADES CARDIO-RESPIRATORIAS.....	11
PROPUESTAS SOBRE LA GENERACION DEL SUEÑO.....	14
SUEÑO EN MAMIFEROS.....	19
SUEÑO EN AVES.....	22
SUEÑO EN PECES Y ANFIBIOS.....	22
SUEÑO EN REPTILES.....	23
ANTECEDENTES DEL SUEÑO EN <u>Ctenosaura pectinata</u>	26
OBJETIVO E HIPOTESIS.....	28
MATERIAL Y METODOS.....	29
RESULTADOS.....	39
DISCUSION.....	73
PERSPECTIVAS.....	100
REFERENCIAS.....	102

RESUMEN

Actualmente se sabe que los vertebrados homeotermos exhiben dos fases de sueño: El sueño de ondas lentas (SL) y sueño de movimientos oculares rápidos (MOR). El SL se caracteriza por las ondas lentas de alto voltaje que se registran en el electroencefalograma (EEG), mientras que los patrones del EEG durante el sueño MOR son rápidos y de bajo voltaje, parecidos a los que se registran durante la vigilia.

Por otro lado, se ha reportado que la administración en los mamíferos de un inhibidor de la síntesis de serotonina (5-HT), como la paraclorofenilalanina (PCPA), provoca una disminución en sus dos fases de sueño, lo cual se ha correlacionado con la disminución en la concentración de serotonina cerebral provocada por la acción de dicho fármaco.

En relación al estudio del sueño en otros vertebrados diferentes a los homeotermos, se ha visto que casi todas las especies de reptiles estudiadas presentan una fase de sueño pasivo (Sp) y una fase de sueño activo (Sa), las cuales tienen similitudes a las fases de sueño descritas para las aves y los mamíferos. Más aún, en algunas especies de reptiles se han identificado a nivel del tronco cerebral, a las neuronas serotoninérgicas de los núcleos del rafe. Estos hallazgos, nos permiten suponer que dentro de los mecanismos que regulan el sueño en los reptiles, la serotonina desempeña un papel importante en el desencadenamiento de dicho fenómeno. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto provocado por la PCPA sobre el contenido de serotonina cerebral de la iguana C.

pectinata, y el efecto que dicho fármaco tiene sobre sus fases de sueño.

En el estudio electrofisiológico se utilizaron 4 iguanas que se implantaron crónicamente para registrar el electroencefalograma (EEG), electro-oculograma (EOG), electromiograma (EMG), y electrocardiograma (EKG). Después de 24 horas de registro control, las iguanas recibieron una inyección de 400 mg/kg (i.p.) de PCPA, y se registraron de manera continua durante 72 horas. En el estudio inmunocitoquímico se utilizaron 8 iguanas, 5 de las cuales recibieron una dosis similar a la del estudio electrofisiológico de PCPA, mientras que las 3 restantes constituyeron el grupo control. 12 horas después de la administración del fármaco los reptiles se perfundieron y de ellos se extrajo el tronco cerebral, el cual se procesó empleando una técnica inmunocitoquímica para la detección de 5-HT. El estudio neuroquímico se realizó en 14 iguanas, 7 de las cuales recibieron una inyección de PCPA (400 mg/kg i.p.). Después de 12 horas de la inyección de la PCPA, las iguanas se sacrificaron y el tronco cerebral se procesó para la determinación de su contenido serotoninérgico mediante el empleo de una cromatografía de líquidos de alta resolución.

Los resultados obtenidos mostraron que el tiempo total del Sp y del Sa se redujeron en un 40% ($p < 0.05$) y en un 64% ($p < 0.05$) respectivamente, después de 24 horas de administrada la PCPA, situación que coincide con la disminución significativa a un 75%, 62%, y 65% en el contenido de 5-HT después de la inyección de la PCPA, a nivel del bulbo raquídeo, el puente y el mesencéfalo respectivamente.

Estos resultados, nos permiten sugerir que la serotonina participa en la regulación de las fases de sueño en los reptiles.

ABSTRACT

Homeothermic vertebrates exhibit two sleep phases: Slow wave sleep (SWS) and Paradoxical sleep (PS). SWS is characterized by presenting an EEG of high voltage slow waves, while EEG patterns of PS consist in low voltage fast waves similar to those of wakefulness.

On the other hand, it has been described that administration of p-chlorophenylalanine (PCPA), an inhibitor of serotonin (5-HT) synthesis, suppresses both SWS and PS sleep in mammals. Depletion in the endogenous content of 5-HT produced by PCPA was thus considered responsible of the decrease in both states of sleep.

Sleep studies in poikilothermic vertebrates are scarce, although it has been possible to distinguish two sleep phases in reptiles: Quiet sleep (Qs) and Active sleep (As). These phases of sleep display behavioral characteristics and vegetative changes similar to those of SWS and PS in birds and mammals. In addition to these findings serotonin-containing neurons in the brain stem of reptiles have been observed. These findings led us to suppose the possible existence of serotonergic mechanisms involved in regulating sleep in these vertebrates. Therefore, the effect of administration of PCPA both on sleep and the endogenous content of 5-HT was studied in the lizard C. pectinata.

Under nembutal anesthesia, four lizards were chronically implanted in order to obtain brain activity (EEG), electro-oculogram (EOG), electrocardiogram (EKG) and electromiogram (EMG) throughout their states of vigilance. Seven days after postoperative recovery, control polygraphic recordings were made

during 24 consecutive hours, followed by administration of PCPA (400 mg/kg/i.p.) and then 72 h recordings were obtained. The second group composed by eight lizards were used for immunohistological study. Three of them were control iguanids and the other five received PCPA (400 mg/kg/i.p.). They were transcardially perfused 12 h after PCPA injection under nembutal anesthesia, with a solution of paraformaldehyde in phosphate buffer (pH 7.4). The brain stem were removed and the sections, cut on a cryostat, were analyzed by means of an immunohistological technique using a specific antibody to serotonin. An additional group of 14 lizards was used to determine 5-HT content in the brain stem. Seven of them were control animals and the other seven received PCPA (400 mg/kg/i.p.). They were sacrificed by decapitation 12 hours after PCPA administration and their brain stem was rapidly removed and homogenized. Concentration of 5-HT was measured by High Performance Liquid Chromatography.

The results showed that, Qs and AS were reduced in 40 % ($p < 0.05$) and 64 % ($p < 0.05$) respectively 24 hours after PCPA administration. This effect was still observed 48 hours and 72 hours post-PCPA administration. On the other hand, neurochemical studies showed that brain stem 5-HT content of PCPA-treated animals decreased by 75 % ($p < 0.05$), 62 % ($p < 0.05$) and 65 % ($p < 0.05$) when compared to control levels of the medulla oblongata, pons and midbrain respectively.

This decrease of both Qs and AS observed in C. pectinata after the PCPA injection is similar to that described in mammals and birds. Furthermore, the neurochemical experiments

showed that reduction of Qs and As after PCPA administration, may probably be related to a depletion of 5-HT from serotonergic neurons involved in sleep regulation in reptiles.

INTRODUCCION

El interés por realizar estudios comparativos de las características que integran el proceso de dormir surge porque a pesar de las investigaciones en las que se analizan los posibles mecanismos reguladores del sueño, no se ha podido aún indicar claramente la manera como estos interactúan, y mucho menos se ha podido explicar como es que dormimos.

La mayoría de los estudios del sueño se han realizado en los mamíferos, organismos que presentan una gran complejidad en su desarrollo cerebral. Por este motivo, al estudiar el sueño en ejemplares de representantes de diferentes grupos de vertebrados, que ocupan una posición inferior a la de los mamíferos en la escala filogenética y cuyo encéfalo es menos complejo, se podría obtener información que pudiera ser esencial para explicar los procesos básicos que desencadenan el sueño en los vertebrados "superiores".

Tomando en cuenta lo anterior, resulta importante estudiar las características del sueño en los reptiles, ya que además de que tienen un encéfalo menos complejo que el de los vertebrados homeotermos, comparten un origen filogenético común con ellos, por lo que es probable que compartan elementos básicos que forman parte de ciertos fenómenos tan complejos como el sueño.

Si bien es cierto que el interés de este trabajo se centra en el estudio del sueño en los reptiles, es importante describir, como marco de referencia, las características electrofisiológicas del sueño y los mecanismos que se supone participan en la generación de algunos de los fenómenos que se presentan durante

dicho estado en los mamíferos.

Se sabe que casi todos los mamíferos estudiados hasta el momento tienen plenamente desarrolladas dos fases de sueño, a excepción de los monotremas como el equidna, el cual presenta una sólo fase (Allison y col, 1972). Tomando en cuenta ciertas características, las dos fases de sueño han recibido diferentes nombres, la primera de ellas es la fase de sueño lento (SL), la cual se caracteriza por presentar ondas lentas de alto voltaje. La segunda, que es conocida como fase paradójica de sueño o fase de movimientos oculares rápidos (MOR), se presenta después de un período de sueño lento, observándose una transición de un patrón electroencefalográfico de ondas lentas y de gran amplitud a otro de frecuencia elevada y bajo voltaje, similar al de la vigilia. Además de presentarse cambios en la frecuencia y amplitud de la actividad cerebral cuando se pasa de un estado de vigilancia a otro, se aprecian modificaciones en otras variables fisiológicas. Por ejemplo, durante la vigilia se observan movimientos oculares numerosos que van disminuyendo en frecuencia hasta desaparecer cuando se pasa gradualmente de la vigilia a la somnolencia y sueño lento, para reaparecer abruptamente durante la fase de sueño paradójico, coincidiendo con la desincronización cortical. Por otra parte, la frecuencia cardíaca también sufre modificaciones observándose aceleración al pasar del sueño lento al sueño paradójico. La actividad muscular se muestra muy intensa durante la vigilia, reduciéndose progresivamente durante el SL hasta desaparecer durante el sueño MOR. Al mismo tiempo, ocurren algunas sacudidas musculares que coinciden con otros eventos, tales como los movimientos oculares rápidos y movimientos de las

extremidades (Ferrero, 1986).

Por otra parte, estudios realizados por diversos autores en gatos, permitieron caracterizar durante el sueño paradójico unas espigas de alto voltaje que se registran a nivel del puente (Jouvet y Michel, 1959), en los núcleos geniculados laterales (Mikiten y col. 1961), y en la corteza occipital (Mouret y col. 1963), a las cuales se les ha denominado ondas PGO (ponto-geniculo-occipitales).

Durante la fase de sueño MOR se pueden distinguir de manera general dos tipos de eventos: fásicos y tónicos. Los primeros son aquellos que se presentan abruptamente de manera intermitente, mientras que los segundos están presentes a lo largo de la mayor parte del tiempo que dura dicha fase de sueño. La desincronización cortical y la atonía muscular registradas durante el sueño MOR, son consideradas eventos tónicos. Mientras que las ondas PGO, los movimientos oculares rápidos, las sacudidas de las extremidades y músculos faciales, y las irregularidades cardiorespiratorias observadas también durante el sueño MOR, son denominados eventos fásicos (Jouvet, 1967, Shouse y Siegel, 1992).

ATONIA MUSCULAR

Pompeiano (1976), sugirió que la atonía muscular observada durante la fase de sueño MOR dependía de la excitación tónica de un sistema inhibitorio supraespinal que inducía la inhibición postsináptica tónica de motoneuronas espinales extensoras y flexoras.

Sakai (1985a, b), propuso a dos estructuras supraespinales como las responsables de la atonía muscular que se presenta durante el sueño MOR: la primera, incluye a los núcleos del peri-Locus coeruleus alfa y la parte media del locus coeruleus alfa en el puente, y la segunda, formada por los núcleos reticulares magnocelulares en la médula oblongada ventromedial. Para Sakai, las neuronas del puente desempeñan el papel de neuronas comando, mientras que las neuronas bulbares funcionan como neuronas relevo. Las neuronas del puente ejercen a través del tracto lateral tegmentoreticular, influencia excitatoria sobre las neuronas de los núcleos reticulares magnocelulares, los cuales ejercen por vía el tracto ventrolateral reticuloespinal, influencia excitatoria sobre interneuronas espinales inhibitorias, logrando así, inducir una inhibición generalizada de motoneuronas espinales. Esta idea ha sido corroborada por Shouse y Siegel (1992), los cuales han reportado la presencia de sueño MOR sin atonía muscular, en gatos lesionados a nivel de los núcleos del locus coeruleus alfa y peri-locus coeruleus alfa. Además de la participación de estos núcleos en la generación de la atonía muscular, se ha propuesto que los núcleos reticulares paramediales (Lai y Siegel, 1988), localizados caudalmente a los núcleos reticulares magnocelulares, y los núcleos reticulares gigantocelulares (Chase y col. 1986), participan también en la atonía muscular registrada durante el sueño MOR.

Con respecto a la naturaleza neuroquímica de las neuronas que participan en la generación de la atonía muscular del sueño MOR, estudios inmunocitoquímicos llevados a cabo en el gato, han

mostrado la existencia de neuronas colinérgicas en el peri-locus coeruleus alfa y en los núcleos reticulares magnocelulares (Shiromani y col. 1987). Mientras que Mitler y Dement (1974), reportaron que la inyección de sustancias colinomiméticas como el carbacol inducen atonía muscular en el gato.

Kodama y col. (1992), reportaron que la atonía muscular generada por la acetilcolina era mediada por dos vías diferentes. Una vía de neuronas glutamatérgicas y colinoceptivas, localizadas en los núcleos reticulares magnocelulares, que inducen atonía por medio de la activación de interneuronas espinales o provocando directamente hiperpolarización de las motoneuronas espinales. Mientras que para estos autores la otra vía está constituida por neuronas colinérgicas de los núcleos reticulares paramediales que inervan a las motoneuronas espinales.

DESINCRONIZACION CEREBRAL

En 1985 Sakai (a, b), sugirió que estructuras del tallo cerebral no monoaminérgicas podrían ser las responsables de la desincronización cortical que se presenta durante la fase de sueño paradójico. Entre estas estructuras se encuentran: a) neuronas de los núcleos talámicos intralaminares, las cuales mandan proyecciones a la corteza cerebral y b) neuronas hipotalámicas posteriores que también proyectan a la corteza cerebral por la vía extra-talámica, la que puede ser referida como un sistema difuso de proyección hipotálamocortical (Sakai, 1985 a, b). Estas estructuras talámicas e hipotalámicas reciben aferencias no monoaminérgicas localizadas en el tronco cerebral,

como la formación reticular, el tegmento pontino dorsal y los núcleos reticulares pontis oralis y caudalis, y los núcleos del rafe magno y nucleos reticulares magnocelulares (Sakai, 1985 a, b).

Para este autor, la desincronización cortical registrada durante el sueño MOR, probablemente es provocada por los sistemas de proyección tálamo-cortical e hipotálamo-cortical, los cuales deben su activación a las estructuras ponto-medulares arriba mencionadas. Entre dichas estructuras las neuronas de la capa tegmental magnocelular, o los núcleos reticulares magnocelulares, juegan un papel crucial en la generación de la desincronización cortical observada durante el sueño paradójico (Sakai y col., 1979). Es importante mencionar que según los reportes de Vanderwolf y Stewart (1988), Robertson y col. (1991), y Vanderwolf (1992), la desincronización del electroencefalograma se debe a la acción conjunta del tálamo y de la influencia serotoninérgica y colinérgica a la que esta sujeta la corteza cerebral de los mamíferos. En relación a esto, la estimulación de neuronas colinérgicas localizadas en los núcleos tegmentales laterodorsales del puente, provoca desincronización cortical (Kayama y col, 1992).

ACTIVIDAD PGO

Sakai (1980), propuso que la actividad PGO de la corteza cerebral es debida a los impulsos ascendentes que surgen de los núcleos geniculados laterales, del complejo posterior pulvinar lateral y de los núcleos intralaminares, particularmente de los

núcleos centrales laterales. Estos núcleos talámicos reciben impulsos excitatorios que se originan en neuronas mesencefálicas caudales y rostrales del tegmento pontino, específicamente del área X, de los núcleos laterales parabraquiales, caudales al área X, de los núcleos tegmentales laterodorsales y de la parte rostral de los núcleos del locus coeruleus alfa (Sakai, 1985 b). Estas agrupaciones neuronales, que han sido consideradas como las responsables de la generación de las ondas PGO, y cuya naturaleza es colinérgica (Steriade y col. 1989; Sakai y col. 1990; Vanni-Mercier y col. 1991; Steriade, 1992), reciben aferencias serotoninérgicas del núcleo del rafe dorsal, y aferencias noradrenérgicas del tegmento pontino dorsolateral (Sakai, 1985 b), en donde se encuentran los núcleos del locus coeruleus, del locus coeruleus alfa, del locus subcoeruleus y de los núcleos laterales parabraquiales. Sakai (1985 a,b), y Ming-Fung y Siegel (1990), propusieron que estas neuronas monoaminérgicas ejercen influencia tónica inhibitoria sobre el sistema ejecutor del sistema PGO, por lo que el cese de la actividad de dichas neuronas provoca excitación fásica de las neuronas generadoras de las PGO. Sin embargo, actualmente se sabe que las neuronas generadoras de la actividad PGO presentan patrones de descarga tónicos durante la vigilia y patrones de descarga fásica que anteceden a las ondas PGO que se registran en los núcleos geniculados laterales durante el sueño MOR (Sakai y col. 1990).

Con estos reportes, se ha propuesto que los mecanismos que controlan el sistema generador de la actividad PGO no están dados únicamente por el sistema monoaminérgico (Pare y col. 1990). Con el propósito de entender dicho control se ha registrado la

actividad unitaria de neuronas localizadas en los colículos superiores, en los núcleos parabraquiales y en la capa tegmental central. En estos estudios, se reportó la existencia de varios tipos de neuronas generadoras de la actividad PGO en los núcleos parabraquiales (Pare y col. 1990; Steriade y col. 1990), las cuales reciben una influencia excitatoria de las neuronas de los colículos superiores y de la capa tegmental central, cuyos patrones de descarga anteceden a la actividad neuronal de dichas neuronas generadoras (Pare y col. 1990). De tal forma que existen células relacionadas con la actividad PGO que no pertenecen a los núcleos que Sakai (1980), propuso como las responsables de dicha actividad. Datta y col. (1991), reportaron que un grupo de neuronas localizadas en la sustancia nigra incrementan su disparo neuronal de 70 a 200 ms antes de que se presenten las ondas PGO talámicas, por lo que también es probable que éstas participen en la génesis de las PGO.

MOVIMIENTOS OCULARES RAPIDOS

Se sabe que la formación reticular del tallo cerebral participa en el control de los movimientos oculares rápidos, por los estudios realizados en los gatos (Yoshida y col. 1982), y en los monos (Henn y Cohen, 1976). En estos reportes se describe a una clase de neuronas excitatorias, que descargan justo antes de que se presenten los movimientos oculares horizontales durante la vigilia. De tal forma que dicha actividad neuronal ha sido considerada como un elemento pre-motor que genera los movimientos oculares (Kaneko y col. 1981). Este mismo autor, describió la

presencia de descargas neuronales a nivel de una zona localizada en la parte anterior de los núcleos abducens, que coinciden con los movimientos oculares y que ha sido denominada área peri-abducens.

A pesar de que la actividad neuronal del área peri-abducens, no ha sido analizada de manera extensa durante los movimientos oculares rápidos que caracterizan al sueño MOR, Siegel y Tomaszewski (1983), observaron una serie de potenciales que relacionaron con los movimientos oculares que registraron en gatos durante el sueño. De tal forma que estos hallazgos, concuerdan con lo reportado por Gassel y colaboradores (1965), en el sentido de la existencia de un grupo de neuronas de los núcleos abducens que descargan fásicamente justo antes de que se presenten los movimientos oculares de la fase de sueño paradójico.

Por otro lado, se ha reportado que un grupo de neuronas localizadas en la parte central del tegmento pontino, y que no corresponden al área peri-abducens, descargan justo antes de que se presenten los movimientos oculares rápidos del sueño MOR (Pivik y col. 1977). Pompeiano (1980), indicó que dichas neuronas participaban en la orientación de los movimientos oculares observados durante el sueño paradójico.

Otro grupo de neuronas que se ha relacionado con los movimientos oculares rápidos que se observan durante la fase de sueño MOR, se localizan en los núcleos intralaminares del tálamo, las cuales participan de manera activa en la generación de dicho fenómeno fásico (Marini y col. 1992).

SACUDIDAS MUSCULARES

Fuertemente relacionadas con la presencia de los movimientos oculares rápidos que se registran durante el sueño paradójico, se encuentran las sacudidas musculares fásicas que se observan principalmente en la cara y en las extremidades de los organismos.

Estudiando la actividad unitaria a nivel de la formación reticular, se ha relacionado la actividad de cierto grupo de neuronas pontomedulares con las sacudidas musculares que se presentan durante el sueño MOR (Siegel y Tomaszewski, 1983). Por otro lado, Vertes (1979) describió, en ratas en libre movimiento, a una población de células a nivel de la formación reticular, que descargaban fásicamente durante los movimientos registrados en el sueño paradójico durante la vigilia. Estas neuronas, descritas por Vertes (1979), se localizan medialmente a los núcleos faciales, y su actividad se ha asociado con los movimientos faciales de la vigilia y con las mioclonias faciales registradas durante el sueño. De tal forma que durante la vigilia, dichas neuronas disparan de manera aislada, mientras que durante el sueño paradójico estas mismas neuronas descargan en ráfagas intensas, que se interrumpen por períodos de longitud variable.

En otros estudios, Siegel y colaboradores (1983), registraron un aumento en el disparo de un grupo de neuronas localizadas en los núcleos reticulares pontis caudalis y gigante celulares. Dicho aumento coincide, según lo reportado, con los movimientos faciales que aparecen durante la vigilia y el sueño MOR. Con base en estos estudios, se ha llegado a la conclusión de que la mayoría de las células que descargan fásicamente durante

las mioclonias registradas en el sueño MOR, están localizadas en una región comprendida entre los núcleos abducens y los núcleos faciales, la cual corresponde a la parte caudal de los núcleos pontis caudalis y de los núcleos gigantocelulares (Vertes, 1984).

IRREGULARIDADES CARDIO-RESPIRATORIAS

Cambios cardiovasculares y respiratorios se presentan durante el sueño paradójico, los cuales están asociados con los eventos motores fásicos que ocurren durante este estado de sueño, a saber, los movimientos oculares rápidos y las mioclonias.

Específicamente, durante el sueño MOR la respiración se hace profunda e irregular (Sullivan, 1980), mientras que la frecuencia cardíaca muestra incrementos fásicos (Mancia y Zanchetti, 1980).

Aunque se sabe de la gran complejidad de los mecanismos que controlan a nivel del sistema nervioso central las funciones respiratoria y cardiovascular, existen datos que sugieren que las fluctuaciones cardio-respiratorias que se observan durante el sueño están mediadas por el complejo parabraquial. De tal forma que Knox y King (1976), reportaron que las neuronas del complejo parabraquial medial, consideradas como el centro pneumotáxico, exhiben cambios en su actividad, los cuales se correlacionan con las fluctuaciones cardio-respiratorias del sueño (Harper y Sieck, 1980). Por otro lado, se ha mostrado que la estimulación del complejo parabraquial provoca elevación significativa en la presión sanguínea y en la frecuencia cardíaca (Mraovitch y col. 1982).

Sieck y Harper (1980), registraron neuronas parabraquiales en el gato, y describieron a una población de células que descargaban en asociación con el ciclo cardíaco durante el sueño MOR. Además, estos autores reportaron que la actividad de un subgrupo de neuronas mediales parabraquiales, se correlacionaba con la actividad respiratoria y cardíaca, por lo que propusieron que dicha agrupación neuronal pudiera funcionar como un centro integrador de los fenómenos cardíacos y respiratorios que se observan durante el sueño.

De todo lo anteriormente expuesto, se concluye que los fenómenos fásicos y tónicos que acompañan al sueño paradójico, al parecer son controlados por diferentes agrupaciones neuronales localizadas a lo largo del tronco cerebral (Fig a).

Atonía.	++++
Desincronización cortical.
Actividad PGO.	\\\\\\
Movimientos oculares rápidos.	
Mioclónicas.	===
Cambios cardio-respiratorios.	o o o c c o o c o

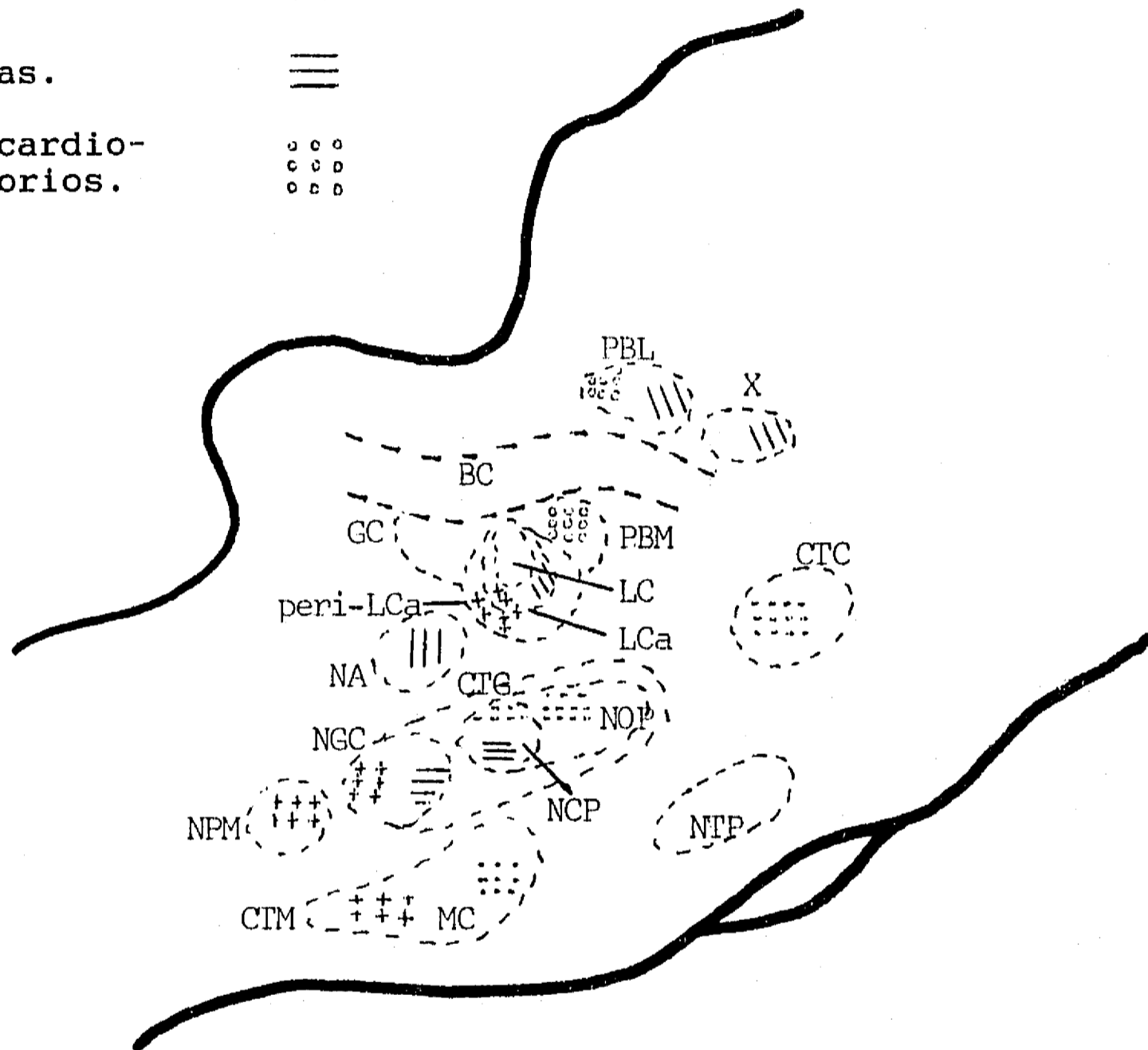


Figura a. Corte parasagital del tallo cerebral del gato en donde se localizan las capas tegmental central (CTC); tegmental magnocelular (CTM) y tegmental gigantocelular (CTG); y los núcleos locus coeruleus (LC); locus coeruleus alfa (LCa); parabraquiales laterales (PBL); parabraquiales mediales (PBM); reticulares gigantocelulares (NGC); peri-locus coeruleus alfa (peri-LCa); reticulares caudales pontinos (NCP); reticulares orales pontinos (NOP); área X (X); griseum central (GC); braquium conjuntivo (BC); reticulares tegmentales pontinos (NTP); reticulares magnocelulares (MC); abducens (NA); y reticulares paramediales (NPM). (Modificado de Vertes, 1990).

PROPUESTAS SOBRE LA GENERACION DEL SUEÑO

Aunque aún no se ha podido explicar de manera satisfactoria, que mecanismos son los directamente responsables de la iniciación del sueño, numerosos investigadores han propuesto y apoyado teorías de diversa naturaleza, con las que se ha tratado de entender el origen de este fenómeno. Por ejemplo, existen teorías conductuales (Aristóteles y Claparède, citados por Horne, 1988), humorales (Pieron, 1913), colinérgicas (Hernández-Peón, 1962; Velazquez-Moctezuma y col. 1991; Semba y Fibiger, 1992; Luebke y col. 1992; Kayama y col. 1992), monoaminérgicas (Jouvet, 1967), neurofisiológicas (Sakai, 1985 a, b), y peptidérgicas (Inoué y col. 1988; Zaphiropoulos y col. 1991), entre otras.

Es evidente que todas las teorías expuestas hasta el momento no pueden explicar enteramente los mecanismos generadores del ciclo sueño-vigilia, por lo que es difícil integrarlas en una sola teoría, además de que entre ellas existen discrepancias. Sin embargo, resulta interesante considerar la teoría monoaminérgica del sueño propuesta por Jouvet en 1967, porque ha originado una gran cantidad de investigaciones con las que se ha tratado de entender cual es el papel de las monoaminas en el sueño.

En esta teoría se proponía originalmente que la serotonina producida en los núcleos del rafe dorsal y central intervienen en la instalación y mantenimiento del sueño de ondas lentas, mientras que los núcleos del rafe magno participan en la instalación del sueño MOR, el cual es mantenido por la noradrenalina generada en los núcleos del locus coeruleus.

La concepción original de la teoría monoaminérgica no es apoyada entre otras cosas, por que las agrupaciones neuronales

monoaminérgicas aumentan su actividad durante la vigilia y se inactivan durante el sueño (Fornal y col. 1985; Rasmussen y col. 1986). Por otro lado, existen datos que muestran que la serotonina desempeña un papel importante en la regulación del sueño. Dichos datos experimentales se pueden resumir en:

1) La destrucción de los núcleos del sistema del rafe, produce insomnio total seguido de una recuperación progresiva después de 10 ó 12 días de su destrucción (Jouvet y Renault, 1966; Jouvet, 1969).

2) La inhibición de la síntesis de serotonina causada por la aplicación de paraclorofenilalanina (PCPA), produce un insomnio total, que es seguido de una recuperación progresiva de sueño de ondas lentas y de sueño MOR (Jouvet, 1969).

3) La administración del precursor inmediato de la 5-HT, el 5-hidroxitriptofano (5-HTP), restablece el sueño de ondas lentas y el sueño paradójico en animales pretratados con PCPA (Petitjean y col. 1980; Denoyer y col. 1989; Touret y col. 1991; Mexicano y col. 1992).

4) La administración de 5,6-dihidroxitriptamina (5,6-DHT), sustancia neurotóxica para neuronas serotoninérgicas, produce desaparición de las dos fases de sueño descritas en los mamíferos (Froment y col. 1974).

Además de estas evidencias, existen una gran cantidad de trabajos en los que se utiliza a la PCPA como una herramienta para provocar insomnio, y observar posteriormente el efecto que

sobre éste tienen varias sustancias, como por ejemplo la colecistoquinina (Prospéro-García y col. 1987), el carbacol (Drucker-Colín y Prospéro-García, 1988), y el flunitrazepam (Hilaire-Kafi y Gaillard, 1988).

Otros de los trabajos que apoyan la participación de la serotonina en la regulación del sueño son los realizados por Gao y col. (1992) y Schenck y col. (1992), en los que reportaron que después de administrar un inhibidor de la recaptura de serotonina (fluoxetina), las fases de sueño de los mamíferos sobre los que trabajaron se vieron disminuidas. Además, Silhol y col. (1992), reportaron una disminución en las fases de sueño de ratas a las que les inyectaron un antagonista del receptor 5-HT₂ (ritanserina). Debido a estos resultados, estos autores propusieron que dichos receptores serotoninérgicos participan en la regulación del sueño, hecho que también ha sido propuesto por Stutzmann y col. (1992).

Resulta importante mencionar que los reportes de Morin y Blanchard (1991 a,b), Prosser y col. (1992), y Medanic y Gillette (1992), indican que la serotonina además de participar en la regulación de las fases de sueño en los mamíferos, interviene de manera importante en la modulación de los ritmos circádicos de estos vertebrados homeotermos.

Por otra parte, existen en la literatura algunos trabajos cuyos resultados cuestionan la idea de la participación serotoninérgica en la regulación del sueño. Jacobs y Jones (1974), reportaron que las lesiones electrolíticas efectuadas por Jouvet y Renault (1966), no sólo destruyen a las neuronas serotoninérgicas de los núcleos del rafe, sino también a las

fibras del fascículo longitudinal medial y a las demás neuronas no serotoninérgicas que se localizan en dichos núcleos. Además, estos autores comprobaron que las lesiones efectuadas por Jouvet (1969), afectan a la parte media de la formación reticular. Por otro lado, se ha reportado que la lesión de los núcleos del rafe en ratas y gatos recién nacidos y adultos (Adrien, 1976; Juvancz, 1980), no altera significativamente los patrones de sueño, a pesar de que con dichas lesiones disminuyeron los niveles de serotonina cerebral. Además de estos trabajos, Rechtschaffen y colaboradores (1973), reportaron que la administración de PCPA en ratas no altera de manera significativa el sueño, mientras que Ross y col. (1976) no observaron alteraciones en los niveles de sueño después de inyectar 5,7-DHT. Recientemente, Sommerfelt y Ursin (1991), reportaron que la administración en gatos de drogas que inhiben la recaptura de serotonina, no producen alteraciones en sus fases de sueño.

En relación al aumento en la actividad de las neuronas serotoninérgicas durante la vigilia y su disminución durante el sueño, Jouvet (1988), propuso que la serotonina liberada durante la vigilia inducía en el hipotálamo ventral, la producción de un factor hipnogénico, el cual sería el encargado directo de poner en juego a las estructuras responsables de ciertos signos electroencefalográficos, tales como: los husos de sueño, las ondas lentas talámicas y corticales, y además de la secreción aumentada de la hormona de crecimiento durante el sueño.

Se ha detectado, a través de técnicas voltamétricas, que

durante el sueño se presenta aumento del metabolito directo de la 5-HT (el ácido 5-Hidroxiindolacético), en comparación con el detectado durante la vigilia (Cespuglio y col. 1990). Con este hallazgo, se ha propuesto que durante el sueño hay liberación de 5-HT a nivel dendrítico, la cual pudiera ser la responsable, a través de procesos auto-inhíbitorios, de la disminución y abolición de la actividad neuronal serotoninérgica observada durante el sueño (Cespuglio y col. 1990; Houdouin y col. 1991 a).

En estudios electrofisiológicos realizados por Limberger y col. (1991), Haj-Dahmane y col. (1991), y O'Connor y Kruk (1992), se ha reportado que la serotonina puede por sí misma controlar la actividad de las neuronas serotoninérgicas de los núcleos del rafe dorsal. Estos autores, indicaron que la aplicación de serotonina en las neuronas de dichos núcleos provoca una disminución en su actividad neuronal, lo cual apoya la idea de Cespuglio y col. (1990), y Houdouin y col. (1991 a), y además constituyen una evidencia de la existencia de autorreceptores presinápticos serotoninérgicos localizados en el soma y/o dendritas de las neuronas de los núcleos del rafe dorsal.

Así, el sueño pudiera iniciarse como resultado de la influencia combinada de la 5-HT liberada por las terminales dendríticas durante el sueño, y el factor hipnogénico sintetizado por las neuronas del hipotálamo ventral, como consecuencia del aumento en el disparo de las neuronas serotoninérgicas observado durante la vigilia (Denoyer y col. 1989; Jouvet, 1988; Cespuglio y col, 1990; y Houdouin y col. 1991 b). Lo anterior confirma la intervención de la serotonina en la regulación de los estados de vigilancia.

SUEÑO EN VERTEBRADOS HOMEOTERMOS

El estudio comparativo del sueño en los diferentes grupos de vertebrados, pudiera aportar información importante para poner en claro el papel biológico que desempeña dicho fenómeno. Por eso, es conveniente describir de manera panorámica las características con las que se presenta el sueño en los vertebrados.

SUEÑO EN MAMIFEROS

Como ya se mencionó, actualmente es un hecho bien establecido que los mamíferos que pertenecen a la subclase de los Therianos (marsupiales y placentarios), presentan una fase de sueño lento (SL) y otra fase de sueño paradójico (SP) o MOR, las cuales han alcanzado su máxima complejidad en el ser humano, en el que se presenta un fenómeno psicofisiológico denominado ensoñaciones, y que aún no ha sido bien comprendido.

Los marsupiales estudiados son: la zarigüeya Didelphis marsupialis (Van Twyver y Allison, 1970); el marsupial australiano Trichosurus vulpecula (Lopresti y Mc. Ginty, 1970), y la rata canguro Potorous apicalis (Astic y Royet, 1974).

En el grupo de vertebrados placentarios, denominados insectívoros, se tienen los estudios de sueño efectuados en el erizo europeo Erinaceus europeus (Toutain y Ruckebusch, 1975), y en los topos Scalopus aquaticus y Condillura cristata (Allison y Van Twyver, 1970).

Con respecto a los mamíferos placentarios del orden Chiroptera, Brebbia y Pyne (1972), describieron en el murciélago Myotis lucifugus tanto la fase de SL como la de SP.

Dentro del grupo de los carnívoros se puede citar el estudio clásico de Jouvet, (1967), en el que describe las fases de sueño del gato Felis catus, y los trabajos de Dallaire y Ruckebusch (1974), realizados en el zorro Vulpes vulpes.

En los mamíferos ungulados, Ruckebusch (1963), determinó que los ruminantes como la cabra y la vaca, presentan claramente dos fases de sueño, por lo que la idea de que estos animales no tenían sueño MOR por el regurgitamiento del alimento, quedó desechada. En otro grupo de ungulados, al que pertenecen el caballo y el burro (perisodáctilos), Ruckebusch y col. (1970), describieron las dos fases de sueño encontradas en los demás mamíferos.

En proboscídeos como el elefante, sólo se han hecho estudios de tipo conductual, en los que se han observado las dos fases de sueño. Durante el sueño MOR se presentan manifestaciones motoras consistentes en descargas de movimientos oculares rápidos, sacudidas musculares, movimientos de la cola y patas, y respiración irregular (Hartmann y col 1968; Tobler, 1992)

Existen reportes que indican la manera como se presenta el sueño en los mamíferos marinos (Mukhametov, 1990). En los cetáceos (ballenas y delfines), se presentan patrones cerebrales que suponen una asimetría interhemisférica, como si cada hemisferio funcionara como un cerebro independiente (Oleksenko y Mukhametov, 1991). En los estudios realizados en la ballena piloto Globicephala scammoni (Serafetinides y col. 1972), se registró dicha asimetría durante la vigilia pasiva y el sueño, la cual desaparece durante la vigilia activa. En los delfines de la especie Tursiops truncatus (Mukhametov y col. 1977), se observó

que mientras un hemisferio presenta actividad cerebral semejante a la registrada durante el SL, el otro hemisferio presentó una actividad rápida y de baja amplitud, que podría corresponder a un estado de vigilia o a una fase de SP. Lyamin (1991), reportó que las focas de la familia Otariidae dormían sobre la superficie del agua, mientras que las de la familia Ohocidae lo hacían bajo el agua.

En el grupo de los desdentados como el armadillo, también se han observado las fases de sueño descritas para otros mamíferos (Prudom y Klemm, 1973).

En los mamíferos del orden Rodentia se han realizado gran cantidad de estudios relacionados con sus estados de vigilancia, por lo que su actividad hipócnica es bien conocida (Rosenberg y col. 1976, 1979; Van Gool y col. 1987; Martin y col. 1990; Krilowicz y col. 1991). Por otro lado, los estudios de Pivik y col. (1986), Tobler y col. (1990), en los lagomorfos (liebres y conejos), han revelado que estos organismos también presentan dos fases de sueño.

Finalmente, los estudios en los primates, incluyendo al hombre, han puesto de manifiesto que en estos organismos también se presentan dos fases de sueño con características conductuales y electrofisiológicas propias (Freemon y col. 1971; Turner, 1984).

En el otro grupo de mamíferos, perteneciente a la subclase de los Prototherianos, solo el equidna se ha estudiado, el cual únicamente presenta la fase de sueño de ondas lentas (Allison y col. 1972).

SUEÑO EN AVES

En estos vertebrados, la vigilia se divide en un estado activo y otro pasivo, en los que la actividad cerebral es rápida y de baja amplitud. Después de la vigilia pasiva se presenta la primera fase de sueño, equivalente al SL de los mamíferos, en donde la actividad cerebral se lentifica, y es interrumpida por períodos pequeños de 4 a 12 segundos, en los que la actividad cerebral se desincroniza. Estas interrupciones corresponden a la fase de SP (Vasconcelos-Dueñas y Ayala-Guerrero, 1983).

Entre los estudios de sueño en estos vertebrados están: Los efectuados en los halcones Buteo jamaicensis arborealis y Herpetotheres cachinnans chapmani (Rojas-Ramírez y Tauber, 1970), en la paloma Zenaida asiatica (Ayala-Guerrero y Vasconcelos-Dueñas, 1988) en el perico Aratinga canicularis (Ayala Guerrero y col. 1988 b; Mexicano y col. 1992), en el buho Strix aluco (Susic y Kovacevic, 1973), en el pato Anas platyrhynchos (Vasconcelos-Dueñas y Ayala-Guerrero, 1983), y en el pollo Gallus domesticus (Schlehuber y col. 1974).

EL SUEÑO EN LOS VERTEBRADOS POIQUILOTERMOS

SUEÑO EN PECES Y ANFIBIOS

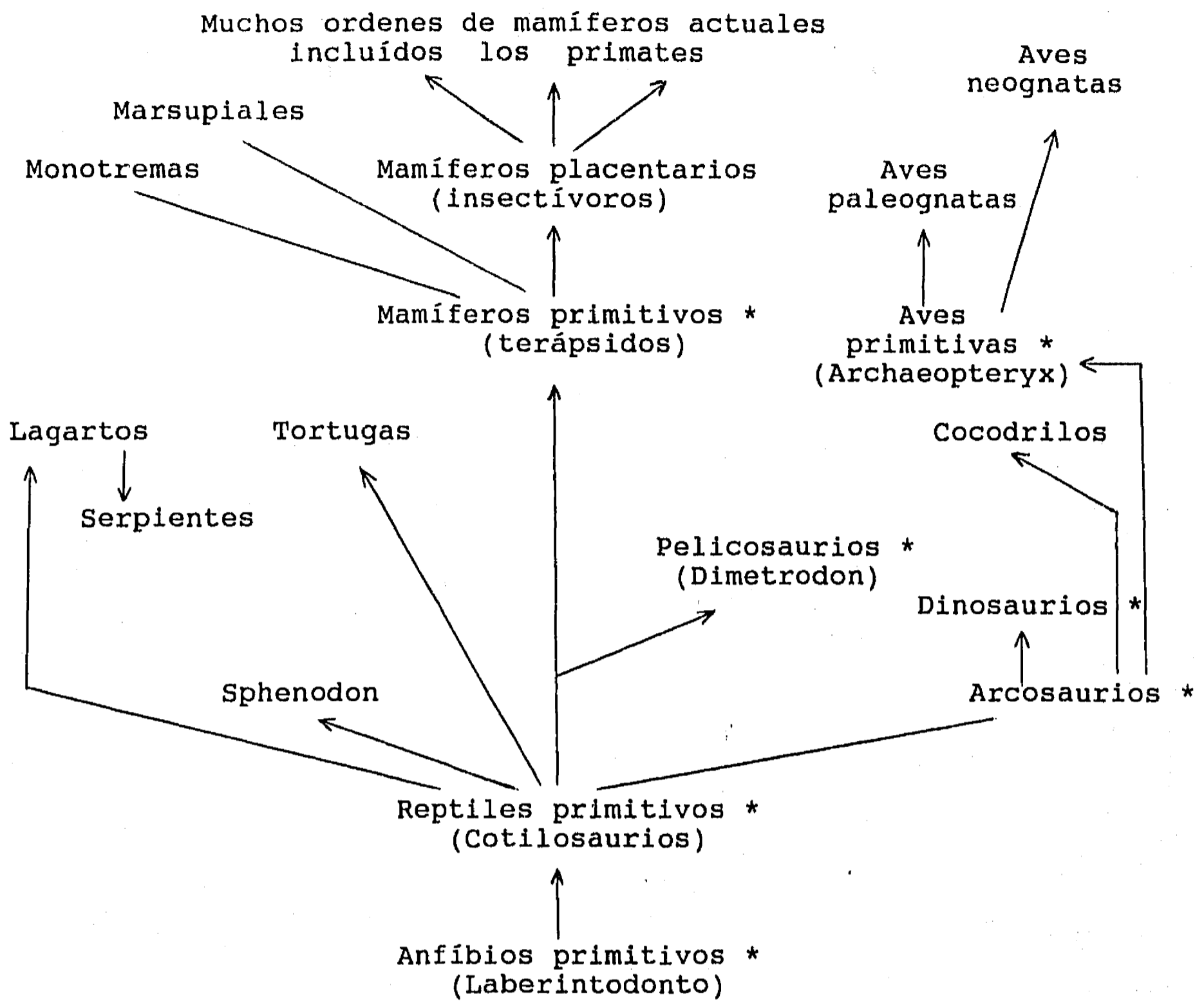
Los estudios electrofisiológicos realizados en peces y anfibios, tendientes a mostrar la existencia de alguna de las dos fases de sueño descritas para los vertebrados homeotermos, son muy pocos por lo que no se han podido encontrar variaciones significativas en el EEG durante sus diferentes estados de

vigilancia. Sin embargo, si se ha observado una disminución en el tono muscular y en la frecuencia respiratoria de estos organismos cuando muestran un reposo conductual (Karmanova y col. 1976; Vorov y col. 1977; Lazarev, 1978)

SUEÑO EN REPTILES

Para analizar los estados de vigilancia en los reptiles, se presentan serios problemas interpretativos que han dado origen a resultados confusos y contradictorios. Esto se debe principalmente a que desde el punto de vista electroencefalográfico, no se han encontrado en los reptiles evidencias claras de la presencia de alguna de las dos fases de sueño descritas para los mamíferos. Sin embargo, no hay que olvidar que el encéfalo de ambos grupos de organismos no tiene el mismo grado de complejidad, motivo suficiente para encontrar diferencias en los patrones cerebrales que se registran durante sus estados de reposo-actividad. Es preciso mencionar que estas diferencias no implican la falta de sueño, sino la carencia en los reptiles de ciertas estructuras cerebrales que en los mamíferos se activan durante el sueño. Filogenéticamente los reptiles, las aves y los mamíferos comparten un origen común (Figura b), a partir del cual cada grupo de organismos siguió una línea evolutiva independiente, hasta alcanzar el grado de desarrollo que tienen los representantes actuales de estos vertebrados (Romer y Parson, 1982). Por este motivo es muy probable que dichos grupos de vertebrados compartan ciertas funciones y fenómenos fisiológicos, entre los que se encuentra el sueño, pero con diferentes grados de complejidad.

En la literatura existen reportes electrofisiológicos llevados a cabo en algunos reptiles, en los que se aportan evidencias sobre la presencia de una o de dos fases de sueño. Así, están los trabajos realizados en el orden Crocodylia (Flanigan y col, 1973; Warner y Huggins, 1978). En el orden Quelonia (Flanigan y col, 1974; Friedman-Saavedra, 1982; Ayala-Guerrero, 1987; Ayala-Guerrero y col, 1988a). Y en el orden Squamata (Flanigan, 1973; Ayala-Guerrero y Vargas-Reyna, 1987; Huntley, 1987; Huitrón-Réséndiz y Ayala-Guerrero, 1991; Huitrón-Reséndiz y col. 1992).



* Extinguido

Figura b. Modificado de Romer y Parson, 1982.

ANTECEDENTES DEL SUEÑO EN Ctenosaura pectinata

En los estudios electrofisiológicos y conductuales realizados en la iguana Ctenosaura pectinata, se han identificado 4 estados de vigilancia: 1) la vigilia activa (VA), durante la

cual las iguanas permanecen en constante actividad; 2) la vigilia pasiva (VP), en la que los reptiles permanecen totalmente quietos con los ojos abiertos; 3) una fase de sueño pasivo (SP); y 4) una fase de sueño activo (SA), (Flanigan, 1973; Ayala-Guerrero y Huitrón-Reséndiz, 1991 a, b).

Según lo reportado por estos autores, durante la vigilia activa las iguanas presentan actividad eléctrica cerebral rápida y de amplitud elevada, mientras que la actividad ocular, el tono muscular y las frecuencias cardíaca y respiratoria alcanzan sus valores máximos. Durante este estado de vigilancia, los reptiles permanecen en estado de alerta, con el cuerpo separado del piso de la cámara de registro y en continuo movimiento.

Con respecto a la vigilia pasiva, la actividad cerebral registrada presenta características similares a las del estado de vigilia anterior. Sin embargo, la actividad ocular, el tono muscular y las frecuencias cardíaca y respiratoria disminuyen de manera importante. Conductualmente los organismos permanecen quietos con los ojos abiertos, y su cuerpo lo descansan sobre el piso de la cámara de registro. La cabeza la mantienen erguida, moviéndola de manera lateral y ocasional (Ayala-Guerrero y Huitrón-Reséndiz, 1991 b).

Durante la fase de sueño pasivo, que siempre antecede a la fase de sueño activo, los reptiles presentan actividad cerebral de baja amplitud y baja frecuencia. Por otro lado, los movimientos oculares que se registran durante la vigilia desaparecen, y la actividad muscular, la actividad cardíaca y la actividad respiratoria, tienden a disminuir. Conductualmente los

animales permanecen quietos con la cabeza y el cuerpo sobre la cámara de registro, y con los ojos cerrados.

En nuestro laboratorio (Ayala-Guerrero y Huitrón-Reséndiz, 1991 b), hemos reportado que durante la fase de sueño activo de C. pectinata las ondas del EEG fueron rápidas y de amplitud elevada, similares a las registradas durante la vigilia. Simultáneamente con esta actividad se registraron ráfagas de movimientos oculares rápidos, mientras que la atonía muscular observada durante la fase de sueño anterior, se vió interrumpida por sacudidas musculares. Durante esta fase de sueño se observaron arritmias cardíacas y respiratorias, mientras que conductualmente las iguanas permanecieron con los ojos cerrados y el cuerpo totalmente relajado.

Además de los estudios electrofisiológicos realizados en Ctenosaura pectinata, se han llevado a cabo estudios de tipo histológico a nivel del tronco cerebral siendo identificadas las neuronas que constituyen a los núcleos del rafe, los cuales se distribuyen exactamente en la parte central del tronco cerebral desde el mesencéfalo hasta la parte posterior del bulbo (Ayala-Guerrero y col. 1991).

Estos hallazgos aunados a la identificación de serotonina en los núcleos del rafe de C. pectinata a través de técnicas inmunocitoquímicas (Ayala-Guerrero y col. 1991) , nos permiten plantear lo siguiente:

OBJETIVO

Analizar el efecto de la paraclorofenilalanina (PCPA), sobre el sueño de la iguana Ctenosaura pectinata. Correlacionándolo con el contenido de serotonina de los núcleos del rafe.

HIPOTESIS

Debido a que se han identificado neuronas serotoninérgicas en los núcleos del rafe de C. pectinata y considerando que las fases de sueño de este reptil son análogas a las fases de sueño de los mamíferos, es de esperarse que al administrar un inhibidor de la síntesis de serotonina como la PCPA, se alteren sus patrones normales de sueño como consecuencia de la disminución de dicho neurotransmisor en los núcleos del rafe.

MATERIAL Y METODOS

El diseño experimental se dividió en tres partes: 1) estudio electrofisiológico de los estados de vigilancia antes y después de la administración de PCPA, 2) estudio inmunocitoquímico, y 3) estudio neuroquímico.

Estudio electrofisiológico.

El trabajo, se llevó a cabo en 4 iguanas adultas de la especie Ctenosaura pectinata, cuyo peso osciló entre los 900 y 1200 gramos. Estos reptiles aparentemente sanos, pasaron por un período de adaptación no menor a 30 días a las condiciones del laboratorio, bajo condiciones de iluminación y temperatura medio ambientales.

Al finalizar el período de adaptación, las iguanas fueron anestesiadas por vía intraperitoneal, con pentobarbital sódico a una dosis de 35 mg/kg. Enseguida se procedió a la implantación, de 7 electrodos de acero inoxidable constituidos por agujas hipodérmicas de longitud aproximada de 5 mm para el registro crónico de la actividad cerebral y ocular, y de 2 electrodos hechos con grapas quirúrgicas para el registro del EMG de los músculos de cuello. La técnica de implantación se realizó de la siguiente manera: Anestesiado el animal se hizo una limpieza con alcohol de la zona de implantación, posteriormente se trepanaron 4 orificios en el hueso parietal del cráneo, 2 a una distancia de 1.5 mm hacia adelante del ojo pineal, y 2 a 1.5 mm hacia atrás. Cada uno de los orificios se encontraba también a 1.5 mm lateral a la línea media. En dichos trépanos se colocaron los electrodos que registraron la actividad eléctrica de los hemisferios

cerebrales en su porción anterior y en su porción posterior (EEG). De la misma forma, se hicieron 2 orificios en el hueso frontal, uno exactamente arriba de cada ojo, en donde se colocaron los electrodos para captar la actividad ocular (EOG). Un séptimo orificio se realizó en la parte más anterior de dicho hueso, y en él se introdujo el electrodo que se refirió a tierra.

Una vez colocados los 7 electrodos, se fijaron con acrílico dental, junto con el conector al que se soldaron.

Para colocar los electrodos de grapa quirúrgica, se hizo una incisión en la parte dorsal del cuello del animal por donde se introdujeron dichos electrodos, para poder registrar la actividad muscular (EMG).

Es preciso mencionar que estos mismos electrodos sirvieron para registrar la frecuencia cardíaca (EKG).

Después de la intervención quirúrgica, los animales se dejaron recuperar durante 7 días en la cámara sonoamortiguada en la que se llevaron a cabo los registros. Dicha fase de recuperación se realizó con un período de iluminación de 12 horas de luz (iniciando a las 8:00 Hrs.) por 12 horas de obscuridad, y a temperatura medio ambiental. Durante las 12 horas de obscuridad se instaló un foco rojo de 25 w, con el propósito de observar la conducta de los animales.

Los registros poligráficos controles se llevaron a cabo durante un período de 24 horas continuas en un electroencefalógrafo marca Grass modelo IIID de ocho canales a diferentes velocidades de registro (3 mm/seg; 6 mm/seg; 12 mm/seg). Posteriormente, a las 20:00 Hrs se les aplicó a las

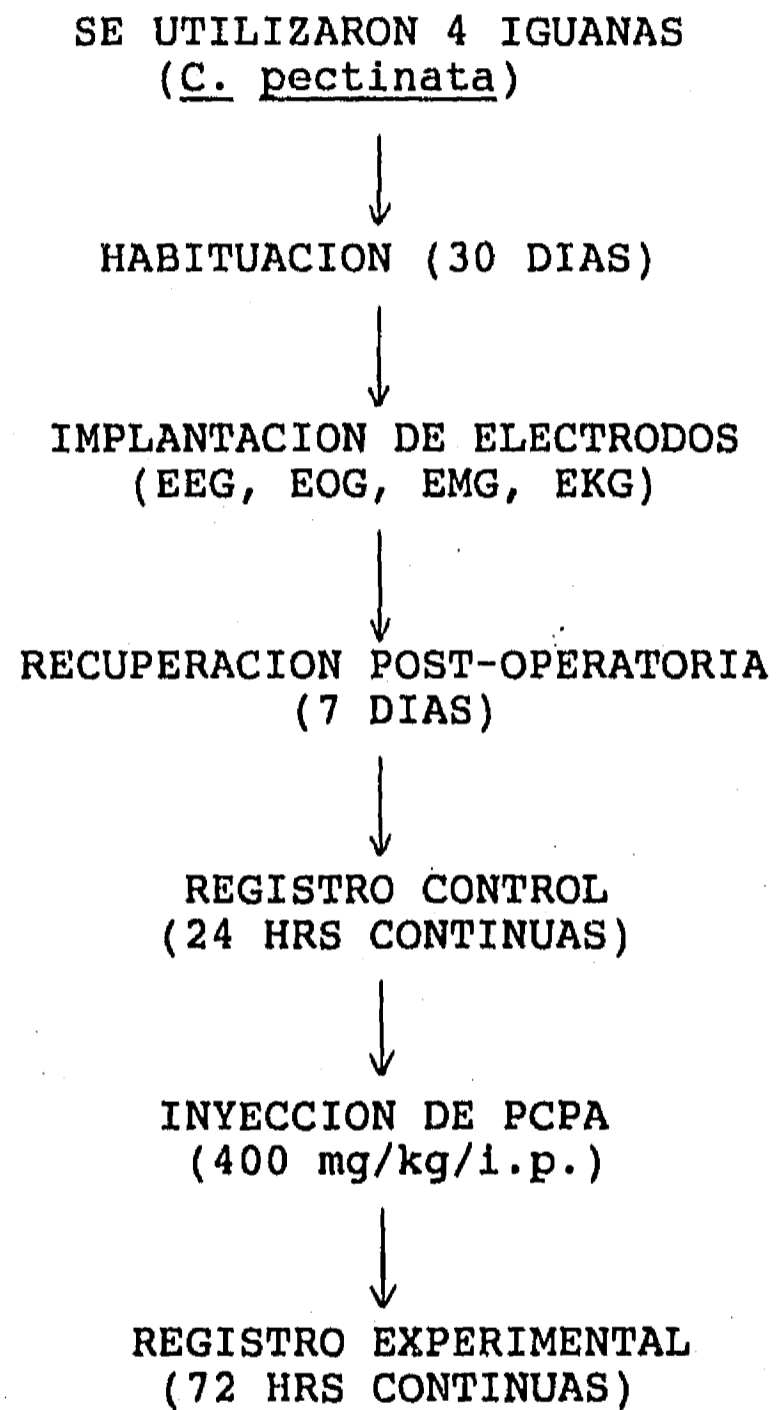
iguanas una dosis de 400 mg/kg (ip) de PCPA. Bajo esta condición se llevaron a cabo los registros durante 72 horas continuas en las mismas condiciones de iluminación y temperatura que la de los registros controles. El hecho de aplicarles la PCPA al inicio de la fase obscura, se debió a que el análisis de los registros controles mostró, que las fases de sueño en estos reptiles se presentan preferentemente durante la noche.

La identificación de los trazos se realizó visualmente y en ellos se cuantificó la cantidad total de tiempo invertido en cada una de los diferentes estados de vigilancia observados, además se obtuvo el porcentaje, la duración promedio y la frecuencia de cada uno de éstos. Para determinar las posibles diferencias estadísticamente significativas entre los resultados controles y experimentales se realizó una prueba paramétrica de t de Student.

La caracterización de la fase de sueño que fue cuantificada como MOR en los reptiles del presente estudio, se dió en base a:

- 1) Su aparición después de largos períodos de sueño pasivo, tal y como sucede en los mamíferos, donde se presenta después de largos períodos de sueño lento, coincidiendo con una marcada inmovilidad conductual.
- 2) Automatismos motores generalizados que incluyen movimientos corporales de las extremidades, de la cola, y cabeza, además de movimientos de masticación. Dichas manifestaciones motoras también son características del sueño MOR de los mamíferos.
- 3) Aparición de movimientos oculares.
- 4) Arritmias en la actividad cardíaca y respiratoria, tal y como se ha descrito en homeotermos, y
- 5) sacudidas fásicas de los músculos de las extremidades y/o cabeza, y/o cola.

Resumiendo el diseño experimental del estudio electrofisiológico se tiene:



Estudio inmunocitoquímico.

El estudio se realizó en 8 ejemplares adultos de la iguana Ctenosaura pectinata. A 5 de estos organismos se les aplicó una dosis de 400 mg/kg (ip) de para-clorofenilalanina (PCPA), mientras que los 3 restantes no se vieron sujetos a ningún tipo de tratamiento.

Doce horas después de inyectada la PCPA, se llevó a cabo la perfusión de las iguanas, la cual se realizó de la siguiente manera: las iguanas se anestesiaron con nembutal a una dosis de 35 mg/kg (ip), posteriormente se realizó una incisión en la región ventral a nivel del torax, a través de la cual se introdujo un separador para desplazar un poco las costillas y dejar al descubierto el corazón, por donde se introdujo, a nivel del ventrículo, una aguja hipodérmica del número 22 por la que se perfundió al reptil con 200 ml de solución salina, para sustituir a la sangre que se drenó por una incisión hecha en la aurícula derecha.

Posteriormente, la perfusión se realizó con 500 ml de paraformaldehído al 4% en una solución salina amortiguada a pH 7.4 (PBS).

Después de la perfusión se extrajo el encéfalo, se identificaron sus partes constitutivas, y se separó la zona correspondiente al tronco cerebral, el cual se colocó en la solución de paraformaldehído en PBS durante 3 horas para su posfijación. Al finalizar dicho tiempo, el tejido se sumergió para su crioprotección, en una solución de sacarosa al 20% durante un tiempo no menor a 15 días.

Posteriormente, el tejido se montó en la platina de un

criostato (American Optical), y se congeló rápidamente con acetona y hielo seco. Se realizaron cortes transversales del tejido con un grosor de 19 micras a una temperatura de -20 grados centígrados.

Los cortes se colocaron en una solución de bloqueo constituida por suero normal de cabra (10%), PBS al 0.3% y albúmina al 1%, durante 2 horas.

Después de lavar los cortes con PBS y Triton X-100, se incubaron con el primer anticuerpo (IgG de conejo anti-serotonina), durante 24 horas en una cámara húmeda a 4 grados centígrados.

Previo lavado del tejido con PBS-Triton, se realizó nuevamente un bloqueo de manera similar a como se describió más arriba.

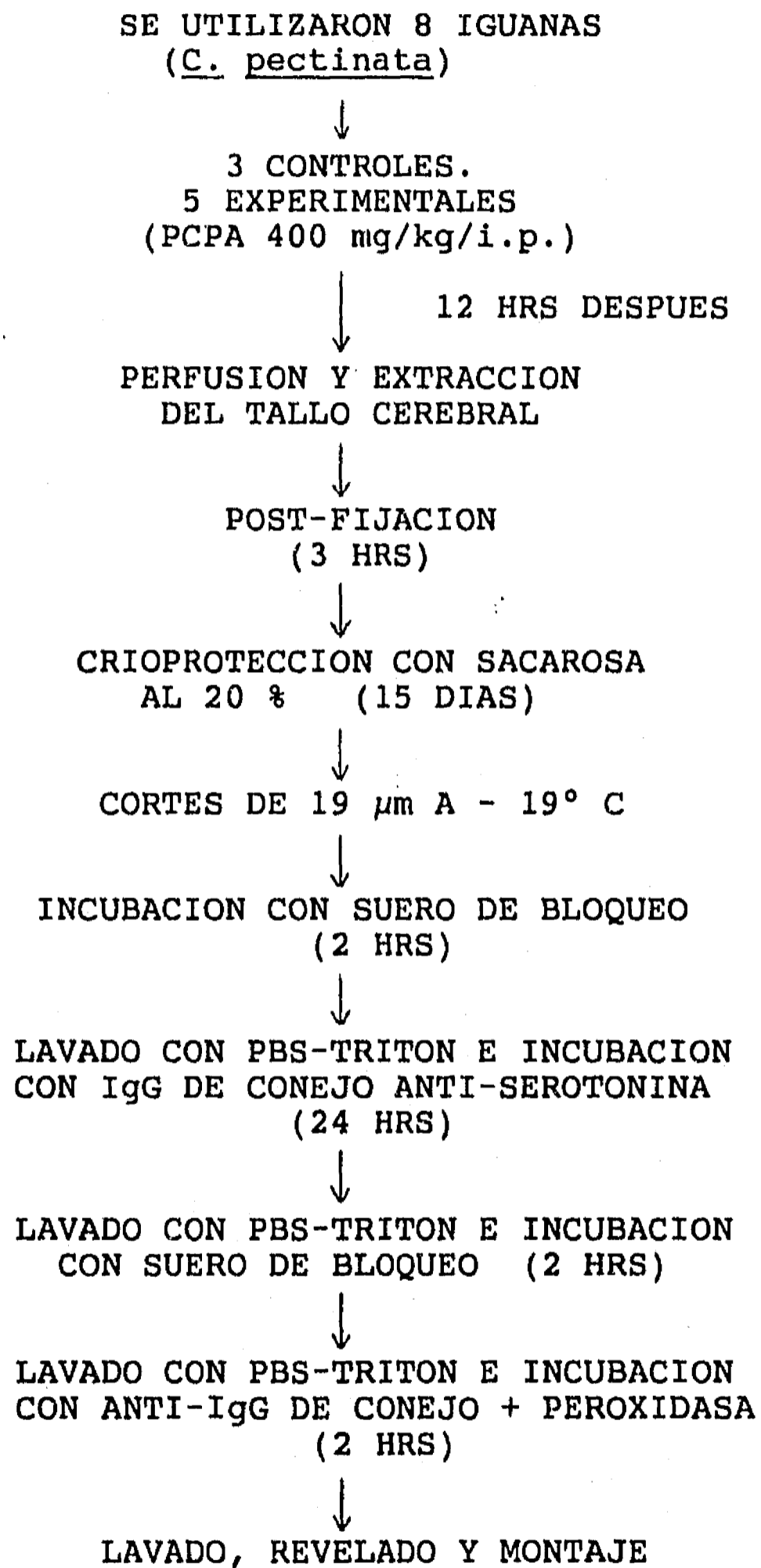
Una vez lavados los cortes, se incubaron con el segundo anticuerpo (anti IgG de conejo conjugado con peroxidasa), durante 2 horas a temperatura ambiente en una cámara húmeda.

Luego de esta última incubación, el tejido se lavó y se reveló con una solución de 3,3-diaminobenzidina al 0.05%, peridrol al 0.01% y 20 ml de PBS durante 8 minutos en obscuridad. Los cortes se lavaron y se colocaron en portaobjetos gelatinados en donde se montaron con resina, para su observación posterior en un microscopio de luz American Optical.

La especificidad del método inmunocitoquímico fue comprobada a través de dos grupos controles: A) Control negativo. En este caso, la especificidad de la inmunorreacción fue examinada incubando al tejido con suero normal de conejo a una dilución de 1:100, bajo las mismas condiciones en las que se realizaron las

incubaciones con el IgG de conejo anti-serotonina. Después de los lavados correspondientes con PBS-tritón y de su incubación en el suero de bloqueo, este tejido control se incubó con el segundo anticuerpo (anti IgG de conejo conjugado con peroxidasa), durante los mismos tiempos y condiciones que el tejido experimental. B) Control positivo. En este caso se utilizaron células cebadas de tráquea de la iguana de este estudio, las cuales se caracterizan por su alto contenido de serotonina. Este tejido se incubó primero con IgG de conejo anti serotonina, y posteriormente con el anti IgG de conejo conjugado con peroxidasa, de acuerdo a lo descrito con anterioridad.

Resumiendo el diseño experimental del estudio
inmunocitoquímico se tiene:



Estudio Neuroquímico.

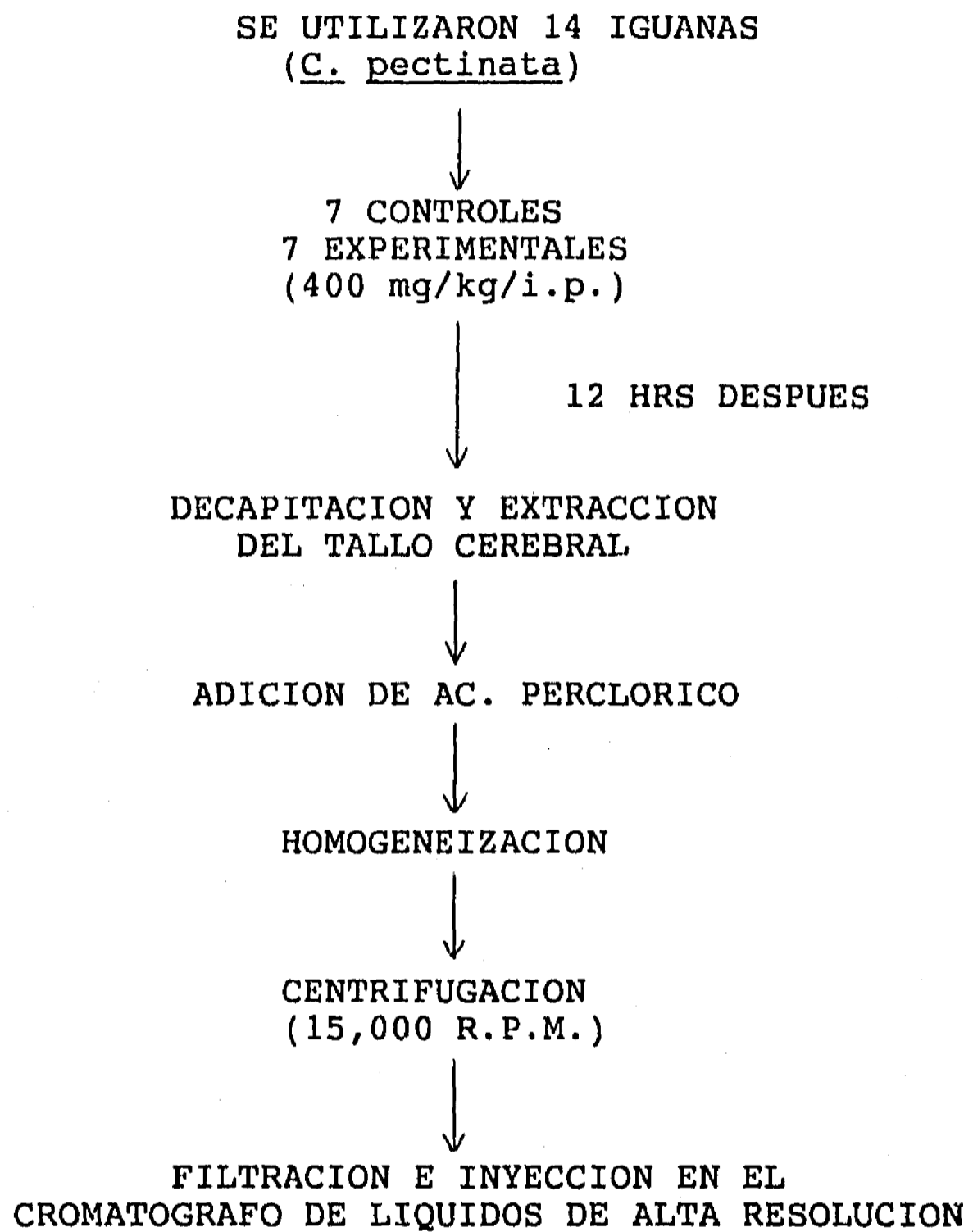
El estudio neuroquímico se realizó en 14 iguanas, 7 de las cuales recibieron una inyección de PCPA a una dosis de 400 mg/kg (ip).

Doce horas después de la administración del fármaco los animales controles y experimentales fueron sacrificados por decapitación. Se extrajo el encéfalo y se separaron las zonas correspondientes al bulbo raquídeo, puente y mesencéfalo.

Después de pesar el tejido, al puente y mesencéfalo se les agregó 400 ml de ácido perclórico, mientras que al bulbo raquídeo se le añadió 1 ml de dicho ácido con el propósito de evitar la oxidación de las monoaminas cerebrales.

Posteriormente, las muestras se homogenizaron y centrifugaron a 15000 r.p.m. durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido de dicha centrifugación se filtró y se analizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución que tenía una columna para la detección de monoaminas. Finalmente, los resultados fueron analizados estadísticamente para determinar las posibles diferencias significativas entre los resultados de los animales controles y de los experimentales, utilizando una prueba paramétrica de t de Student, mientras que para determinar las diferencias en la distribución de las monoaminas a lo largo del tronco cerebral, se utilizó una ANOVA de una vía y luego una prueba de Tukey.

Resumiendo el diseño experimental del estudio neuroquímico se tiene:



RESULTADOS

Las iguanas de la especie estudiada mostraron 4 estados de vigilancia con características electrofisiológicas y conductuales propias. Dichos estados son: la vigilia activa, la vigilia pasiva, el sueño pasivo y el sueño activo.

Durante la vigilia activa se registró una actividad eléctrica cerebral cuya frecuencia osciló entre 9.0-10.2 ciclos por segundo (cps), y de amplitud de $23.3 \mu v (\pm 2.2 \mu v)$. Sobre dicha actividad frecuentemente se sobreponían ondas lentas de gran amplitud originadas por los artificios producidos por el movimiento del animal. La actividad ocular se mantenía elevada (50.3 ± 3.6 movimientos por minuto), lo mismo que el tono muscular (Figura 1). Durante esta fase se registró una frecuencia cardíaca cuyo valor promedio fue de 44.3 ± 5.5 latidos por minuto.

Conductualmente las iguanas exhibieron una postura en la que el cuerpo separado del piso, se apoyaba sobre las cuatro extremidades, mientras que la cabeza se movía hacia los lados. Durante esta fase, el animal mantenía una actividad motora generalizada e ingería sus alimentos (Figura 1).

En la vigilia pasiva se registró una actividad cerebral cuya amplitud fue de $22.5 \pm 2.2 \mu v$ y una frecuencia que osciló entre 8.4 y 10.2 cps. La actividad ocular fue menos frecuente que la presentada en la vigilia activa (8.9 ± 0.7 movimientos por minuto), mientras que el tono muscular se redujo a un 30% en comparación al del estado de vigilia anterior (Figura 2). La frecuencia cardíaca también disminuyó (34 ± 7.5 latidos por

minuto).

Durante la vigilia pasiva los animales permanecieron quietos con los ojos abiertos, el cuerpo sobre el piso, y la cabeza erguida con algunos movimientos laterales (Figura 2).

Después de la vigilia pasiva se presentó la etapa de sueño pasivo que siempre antecedió al sueño activo. Durante el sueño pasivo, la frecuencia de la actividad cerebral varió de 5.4 a 6 cps, mientras que la amplitud fue de $9.5 \pm 1.8 \mu\text{v}$. Por otro lado, la actividad ocular disminuyó hasta desaparecer, mientras que el tono muscular se abatió hasta un 8% (Figuras 3, 4). La frecuencia cardíaca disminuyó a 20.1 ± 2.8 latidos por minuto. Es importante mencionar que durante este estado de sueño, en el EEG se registraron una serie de espigas de alto voltaje que aparecieron de manera intermitente (Figuras 3, 4). Dichas espigas mostraron una marcada tendencia a desaparecer durante las fases de vigilia.

Conductualmente los animales permanecieron quietos con la cabeza y el cuerpo sobre el piso de la cámara de registro, y con los ojos cerrados. La relajación muscular durante este estado de sueño llegó a ser tal que sus extremidades yacían fláccidamente pegadas al cuerpo en dirección a la cola (Figura 3).

Después de la fase de sueño pasivo se instaló el sueño activo, durante el cual el EEG mostró ondas con una frecuencia de 7.2 a 8.4 cps, mientras que la amplitud de dicha actividad aumentó en relación al estado de sueño pasivo ($19.5 \pm 3 \mu\text{v}$). Simultáneamente a esta actividad, se presentaron ráfagas de movimientos oculares rápidos (32 ± 5.7 movimientos por minuto),

mientras que la atonía muscular se veía interrumpida por sacudidas musculares o mioclonias que provocaban un aumento en el tono muscular (Figuras 5, 6). Durante esta fase de sueño, se observaron arritmias en la frecuencia cardíaca (Figura 5).

Súbitamente, estando el animal completamente relajado aparecían automatismos motores, característicos del sueño activo, que involucraban a las extremidades, los ojos y la cabeza.

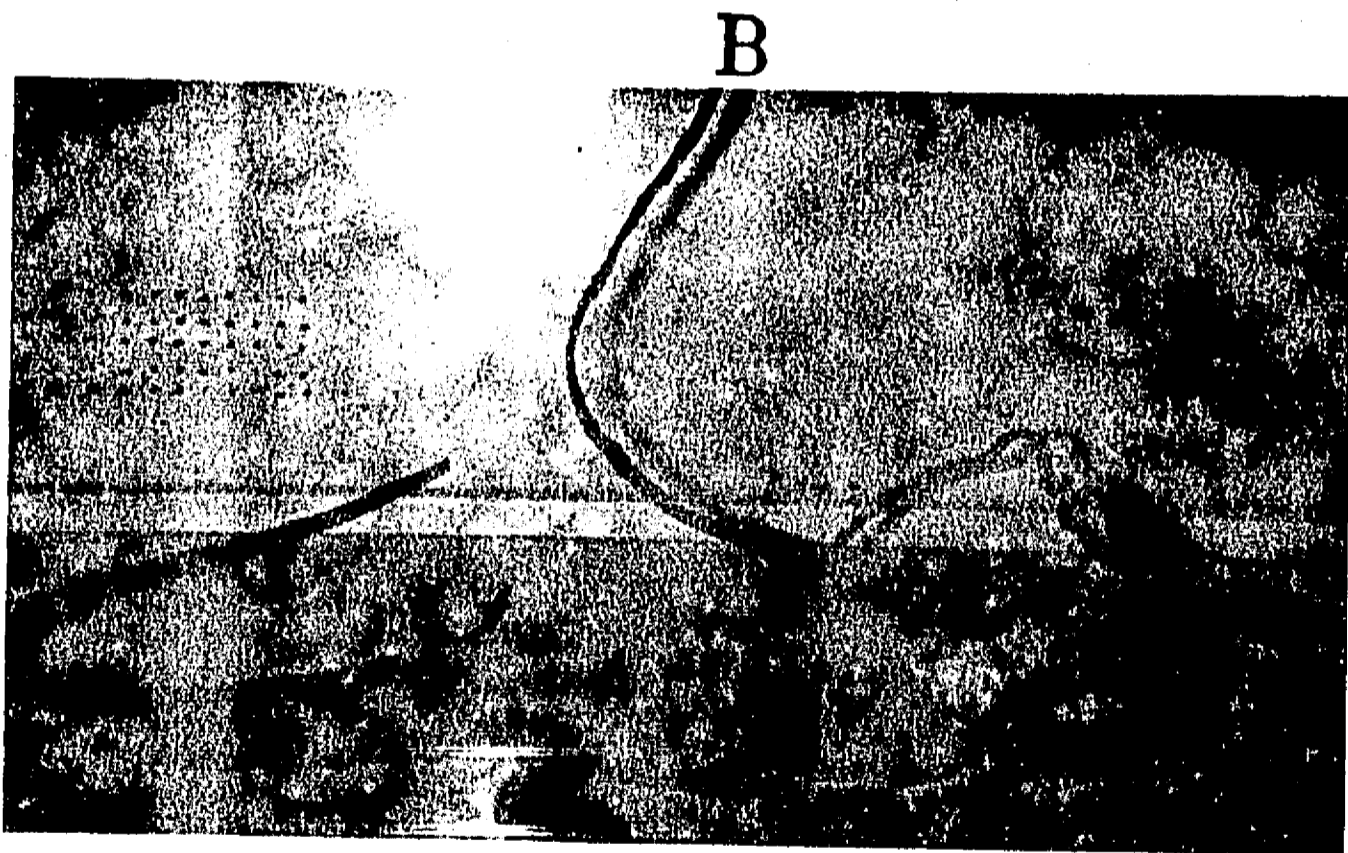


Figura 1. Vigilia activa. En A se muestran las características poligráficas de esta fase de vigilia. En el EOG (1), se observan una gran cantidad de movimientos oculares, y en el EEG anterior (2), y posterior (3), se registran ondas de gran amplitud producidas por los movimientos del animal que se superponen a la actividad de base. El EMG y el EKG (4), permanecieron elevados. En B se muestra la conducta exhibida por este reptil en la fase de vigilia activa.

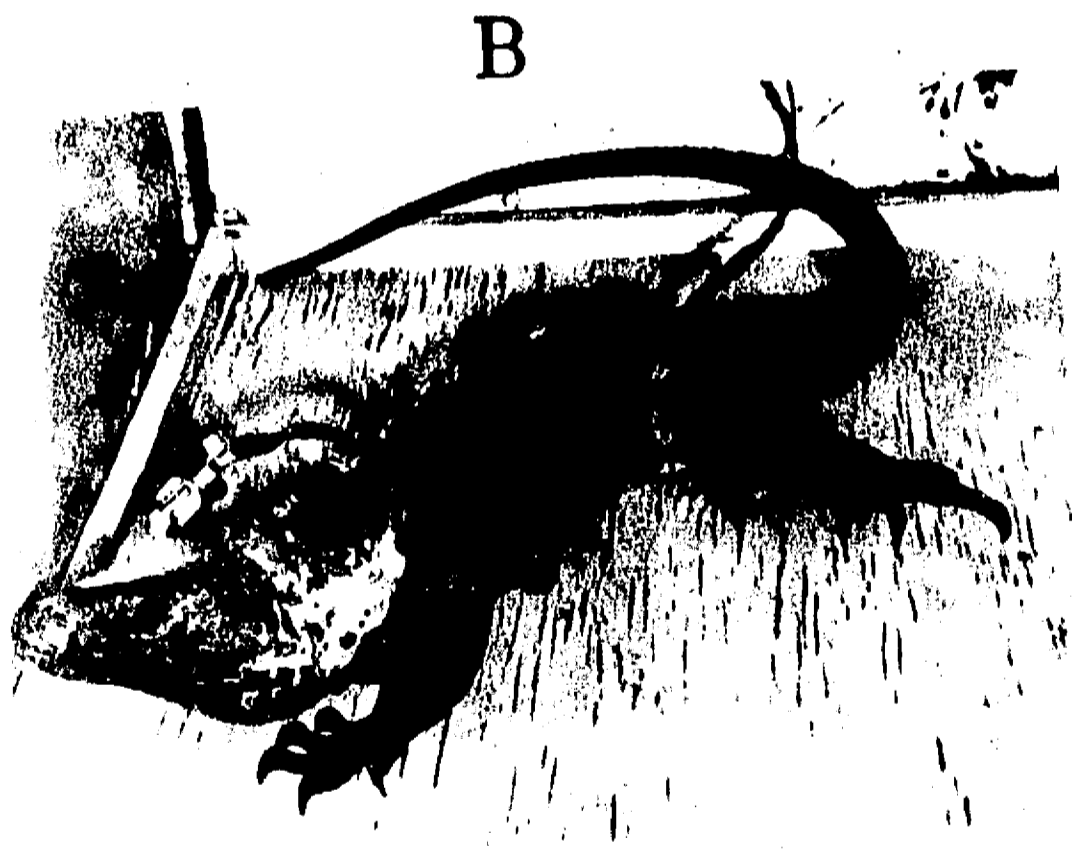
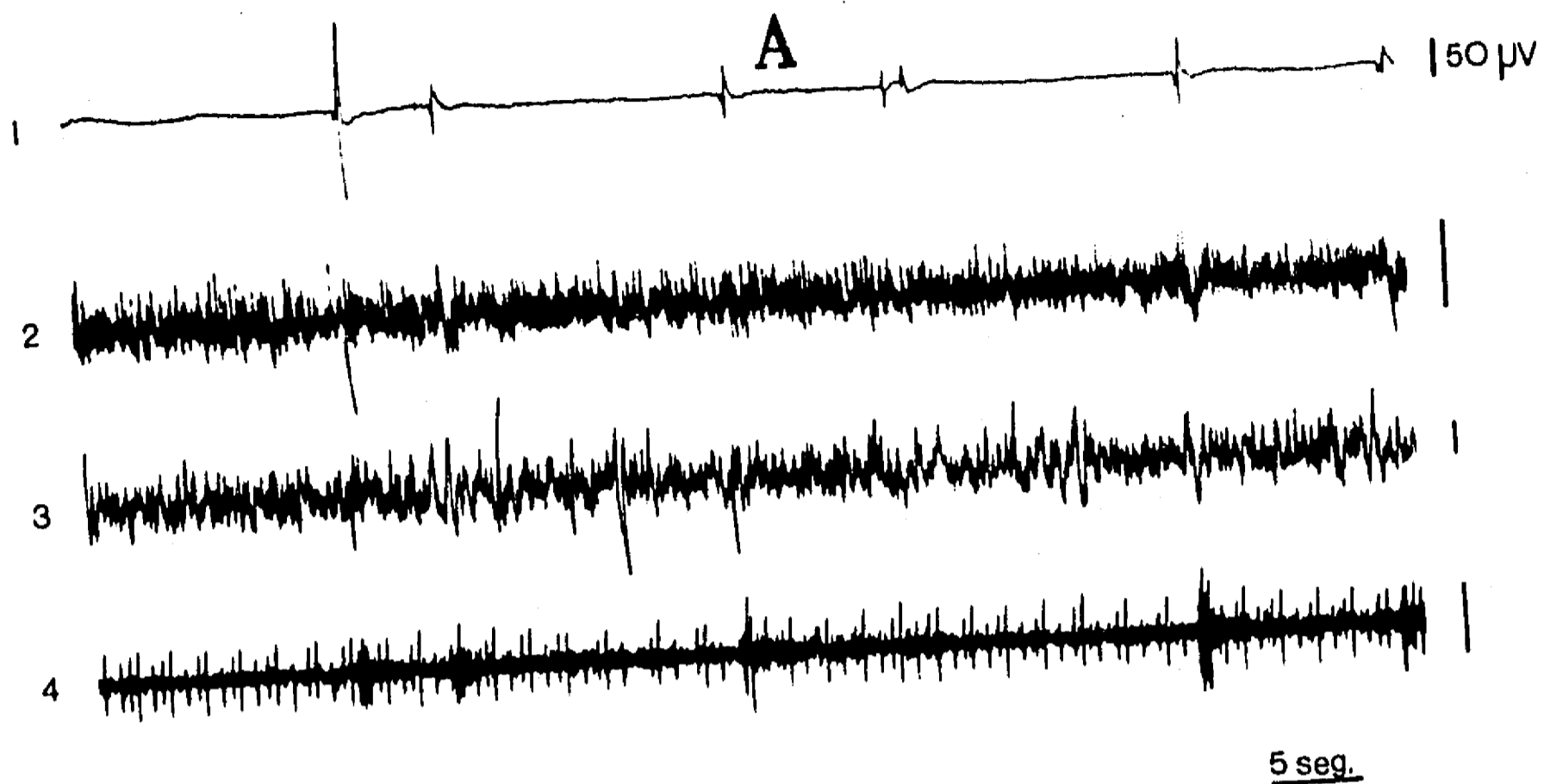


Figura 2. Vigilia pasiva. En A se observa que los movimientos oculares (1) disminuyen en comparación con la vigila activa, lo mismo que el EMG y el EKG (4). El EEG anterior (2) y posterior (3), permanece rápido y de amplitud elevada. En B se muestra la conducta del reptil para esta fase de vigilia.

A

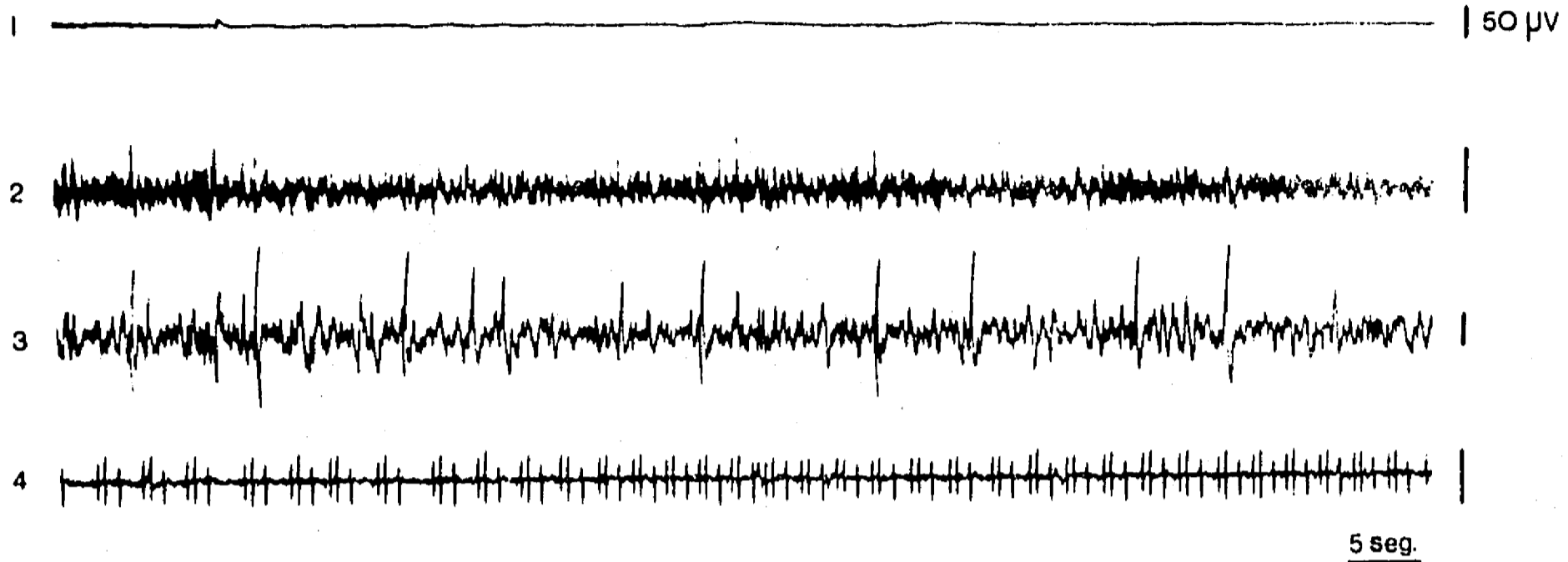


Figura 3. Sueño pasivo. En A se observa que la actividad ocular desaparece (1), y sobre la actividad de base del EEG anterior (2) y posterior (3), se observan espigas de gran amplitud, mientras que el EMG y el EKG (4) disminuyen. En B se muestra la conducta exhibida por la iguana durante esta fase de sueño.



Figura 4. Patrones electrofisiológicos de la fase de sueño pasivo a diferentes velocidades. EOG (1), EEG anterior (2), EEG posterior (3), EMG y EKG (4).



Figura 5. Sueño activo (Sa). Durante esta fase de sueño aparecen ráfagas de movimientos oculares (1), mientras que en el EEG anterior (2) y posterior (3), se registra una aceleración en las ondas. El EKG (4) durante esta fase de sueño se hace arrítmico.

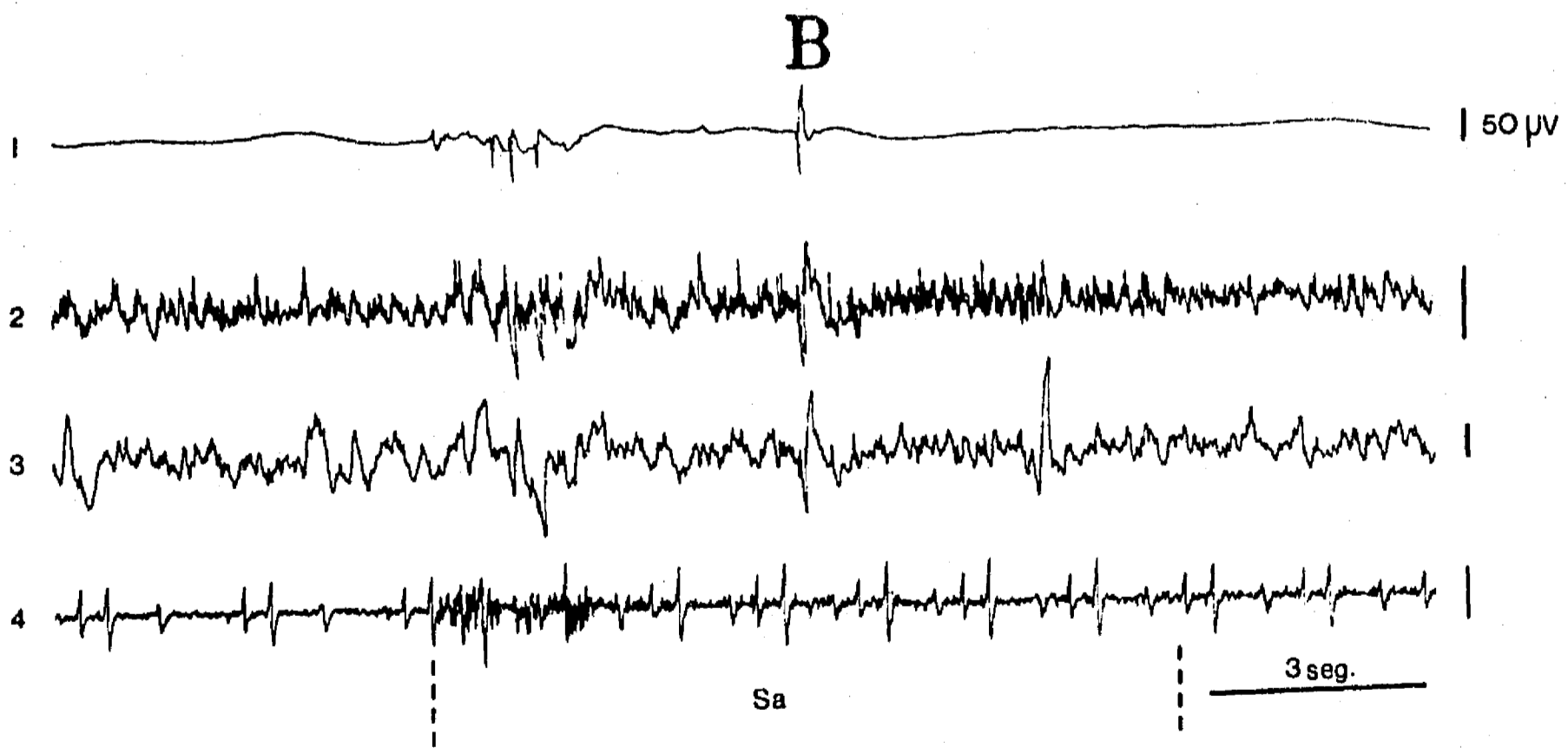
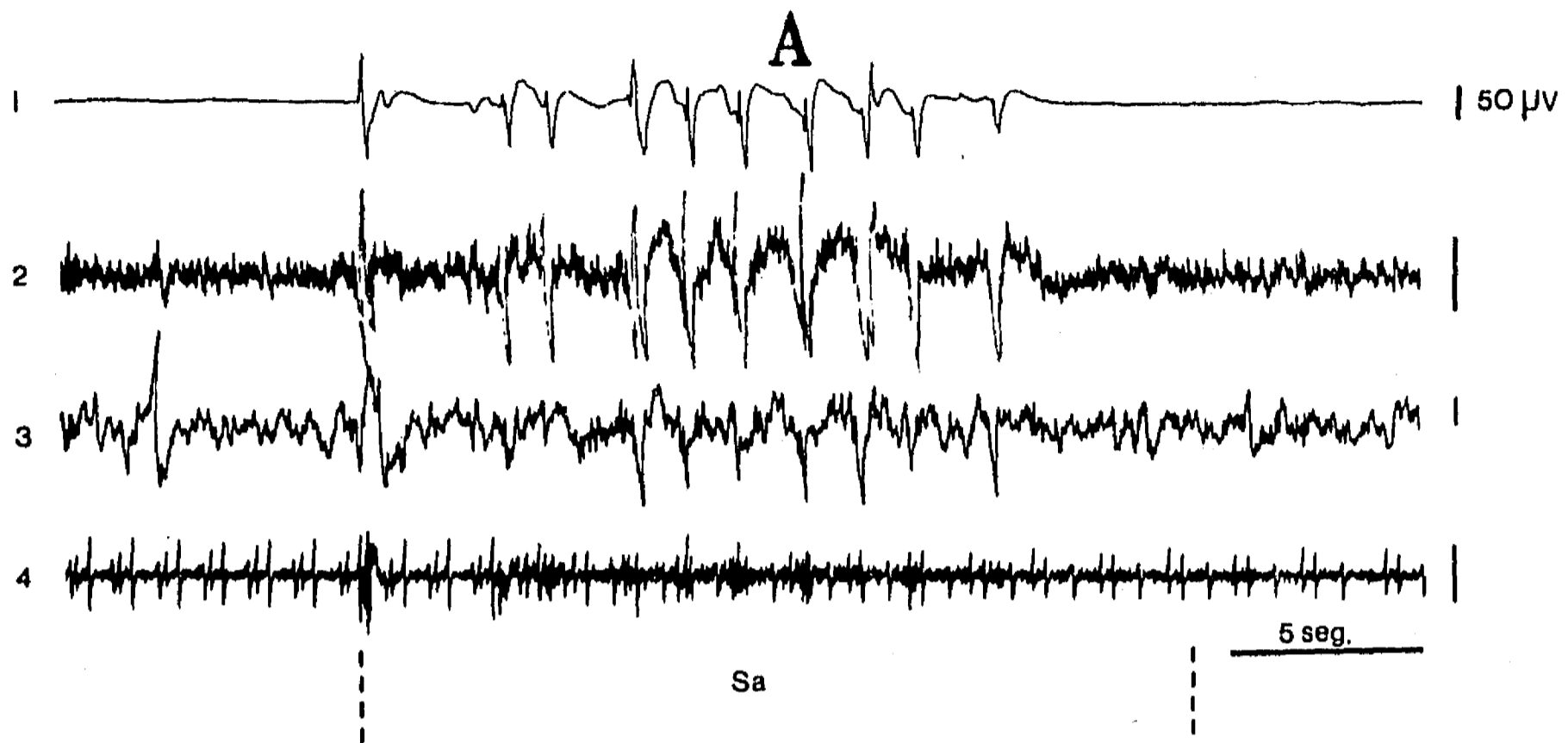


Figura 6. Patrones electrofisiológicos del sueño activo (Sa) a diferentes velocidades. En A y B, los artificios producidos por las mioclonias del animal se superponen a la actividad de base del EOG (1) y del EEG (2, 3). EMG y EKG (4).

CARACTERISTICAS CUANTITATIVAS DE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA
EN LA IGUANA C. PECTINATA

El análisis del tiempo que pasan las iguanas de este estudio en cada uno de los estados de vigilancia durante el nictémero, muestra que la mayor parte del tiempo se encuentran en vigilia pasiva (45.42%), y en sueño pasivo (50.09%) (Cuadro 1), ocupando un mínimo porcentaje la vigilia activa y el sueño activo.

ESTADO DE VIGILANCIA	TIEMPO TOTAL EN 24 HORAS DE REGISTRO	%
Vigilia activa (Va)	59.95 min.	4.16
Vigilia pasiva (Vp)	653.32 min.	45.42
Sueño pasivo (Sp)	720.39 min.	50.09
Sueño activo (Sa)	4.86 min.	0.31

Cuadro 1. Se muestra el tiempo total y el respectivo porcentaje de los diferentes estados de vigilancia observados en C. pectinata a lo largo del nictémero (los valores corresponden al promedio de los cuatro ejemplares registrados).

La duración de la fase de sueño activo de C. pectinata osciló entre 5 y 33 segundos, con un promedio general de 5.97 segundos, mientras que el promedio en el número total de fases de este tipo de sueño fue de 48 fases en 24 horas de registro.

La distribución nictemeral de los estados de vigilancia indica que las iguanas de la especie C. pectinata, son animales polifásicos, aunque muestran una tendencia a dormir preferentemente durante la noche (Figura 7).

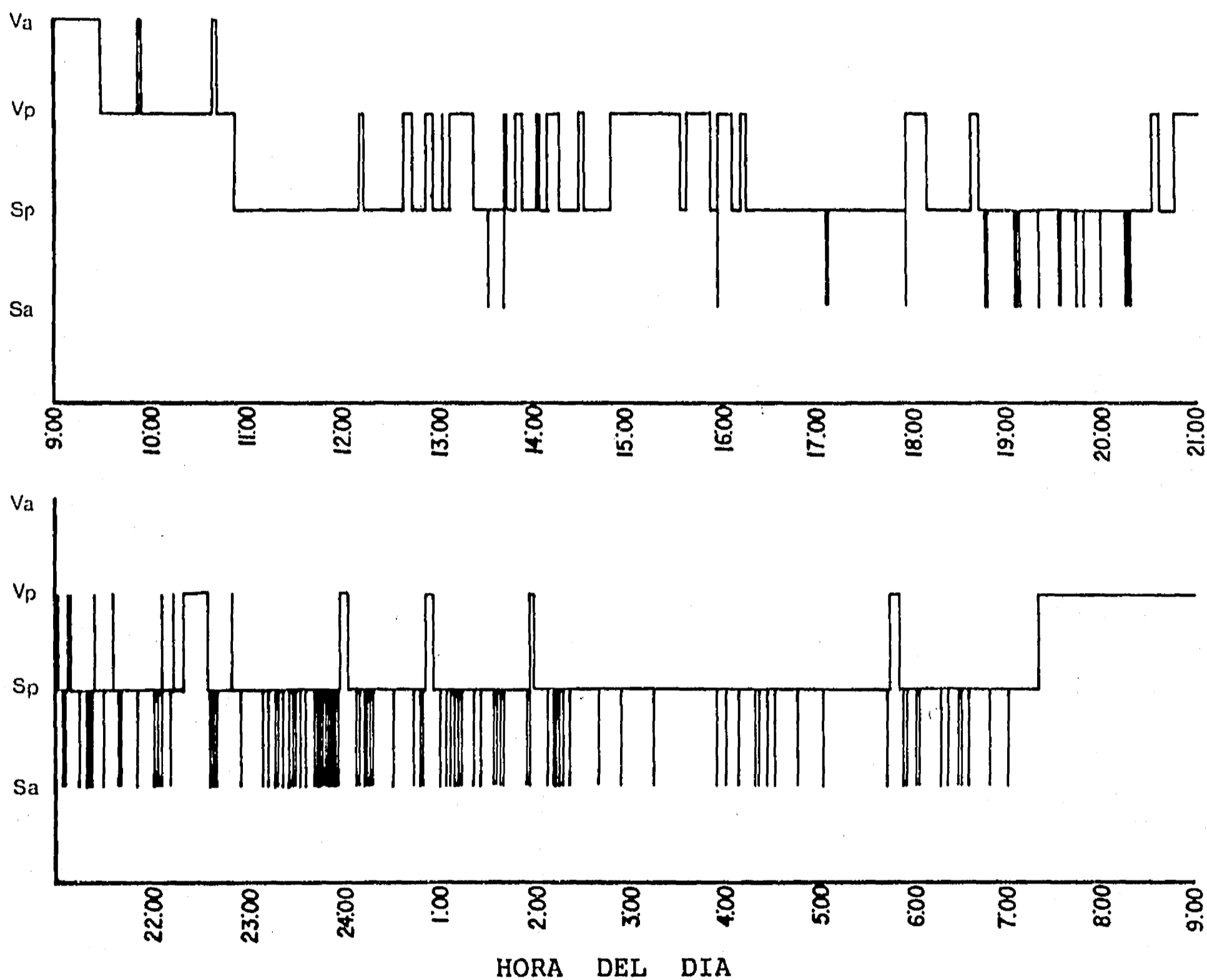


Figura 7. Hipnograma representativo de la distribución nictemeral de las fases del ciclo sueño-vigilia de C. pectinata. Va, vigilia activa; Vp, vigilia pasiva; Sp, sueño pasivo; Sa, sueño activo.

EFECTO DE LA PCPA SOBRE LOS ESTADOS DE VIGILANCIA

Un análisis general (Cuadro 2), muestra que los diferentes estados de vigilancia de la iguana C. pectinata exhibieron cambios significativos a lo largo de dos de los tres días que siguieron a la administración de la PCPA (400 mg/kg/i.p.)

	CONTROL	EXPERIMENTAL		
	24 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS
Va	59.95 ± 19.3 (4.16%)	241.17 ± 72.6 (16.80%) *	269.92 ± 68.1 (18.74%) *	202.53 ± 66.9 (14.08%)
Vp	653.32 ± 91.4 (45.42%)	725.19 ± 99.9 (50.52%)	514.58 ± 124 (35.73%)	595.42 ± 73.4 (41.35%)
Sp	720.39 ± 78.4 (50.09%)	467.20 ± 62.5 (32.55%) *	652.14 ± 63.2 (45.29%)	636.38 ± 29.7 (44.19%)
Sa	4.86 ± 0.7 (0.31%)	1.61 ± 0.4 (0.11%) *	3.27 ± 0.1 (0.22%)	5.58 ± 0.7 (0.38%)

Cuadro 2. Tiempos totales en minutos y porcentaje de los diferentes estados de vigilancia de la iguana C. pectinata, bajo condiciones control y experimental. Va, vigilia activa; Vp, vigilia pasiva; Sp, sueño pasivo; Sa, sueño activo. (* p < 0.05)

El tiempo total de la fases de vigilia activa de C. pectinata sufrió un aumento a lo largo de los tres días de registro experimental (Figura 8). Sin embargo, sólomente en las primeras 24 y 48 hrs posteriores a su inyección hubo diferencias significativas. Este aumento se dió a expensas de las dos fases de sueño observadas en el reptil de este estudio.

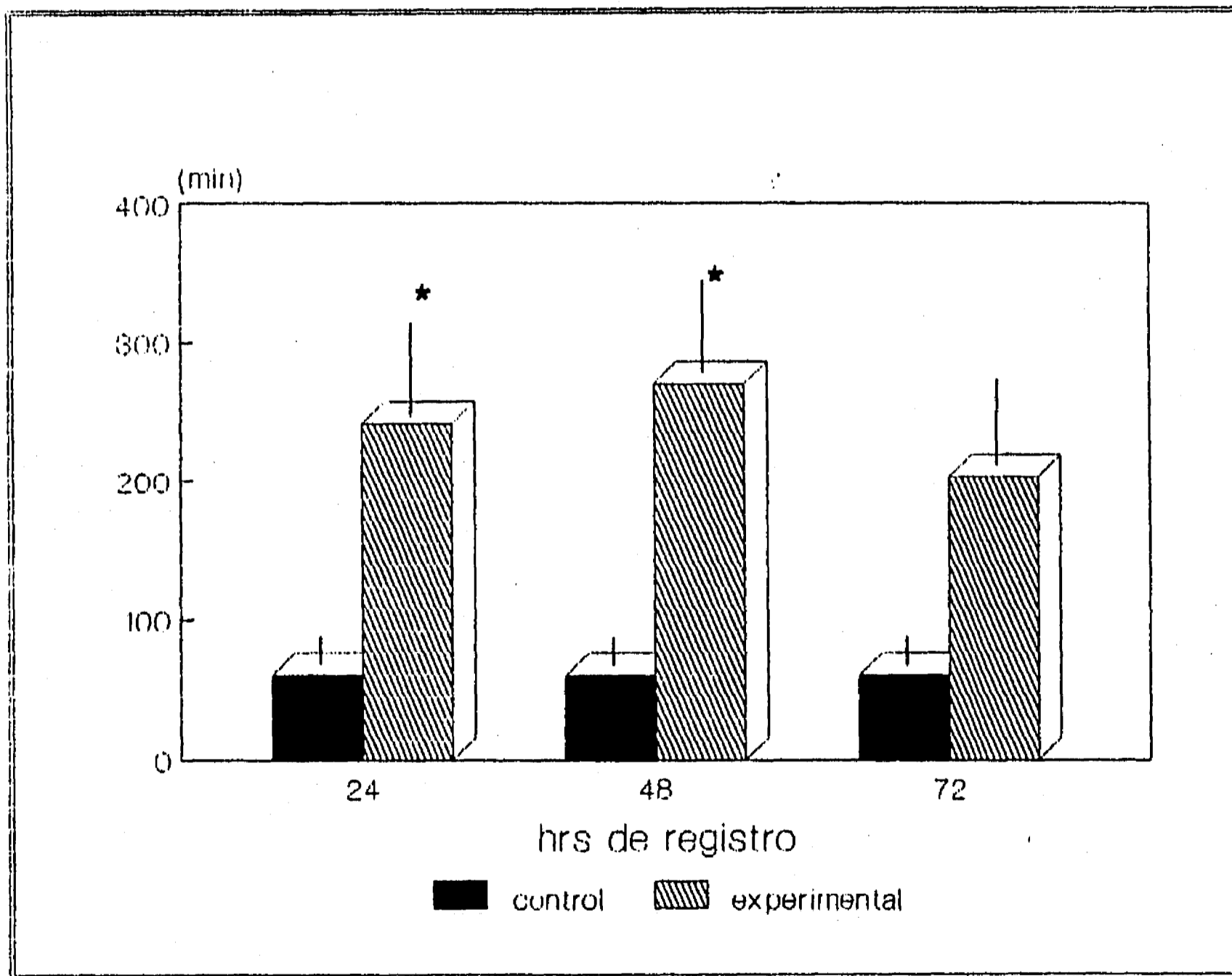


Figura 8. En la gráfica se observa un aumento en el tiempo total de vigilia activa a lo largo de las 72 horas de registro experimental. (* $p < 0.05$)

El tiempo total de vigilia pasiva, no se modificó de manera significativa a través de los tres días de registro experimental (Figura 9).

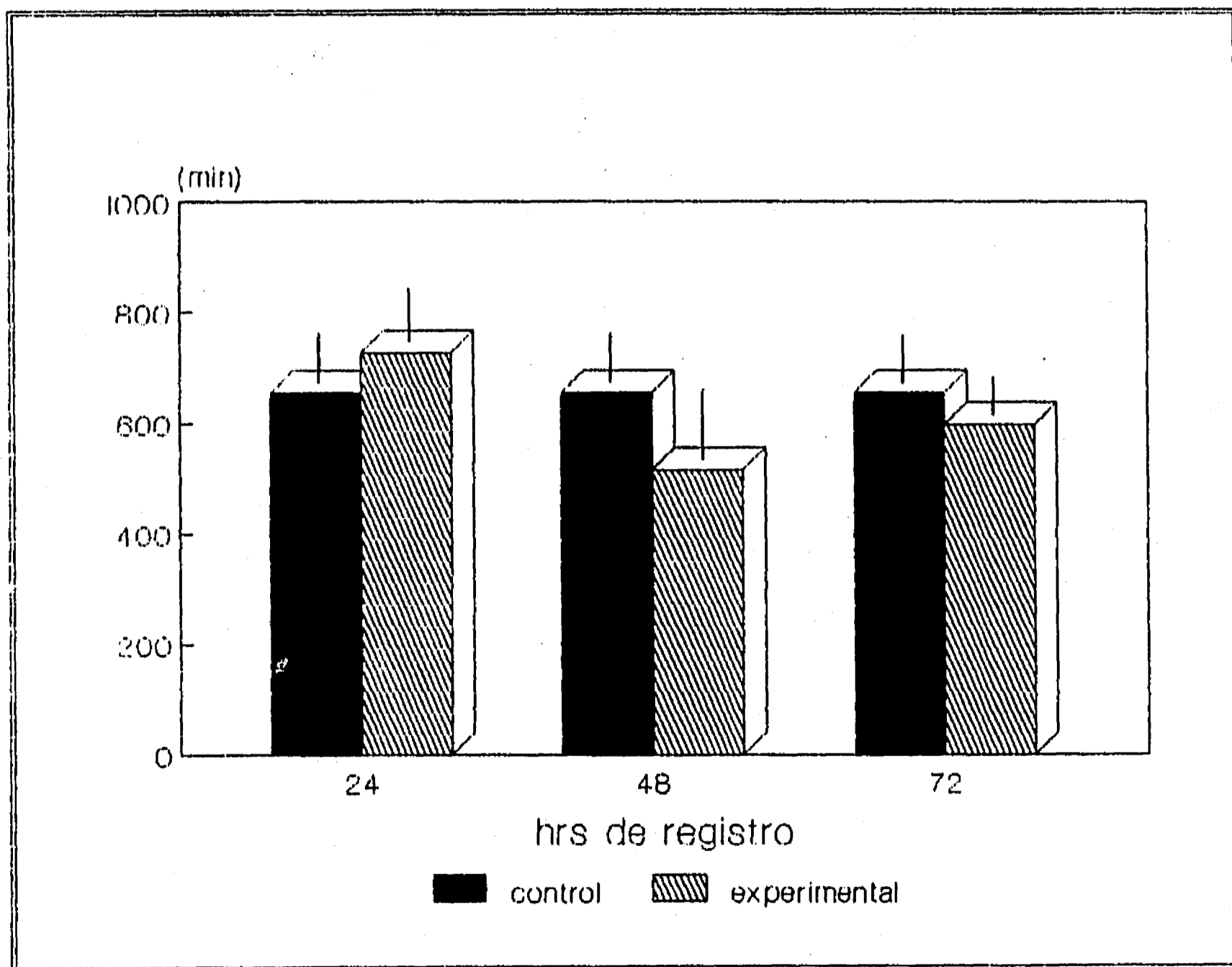


Figura 9. Tiempo total en vigilia pasiva de C. pectinata

Después de la administración de la PCPA, se observó que durante las 72 horas que siguieron a su aplicación, el tiempo total de sueño pasivo disminuyó (Figura 10). Sin embargo, sólo en las primeras 24 horas que siguieron a la inyección del fármaco, dicha disminución fue estadísticamente significativa.

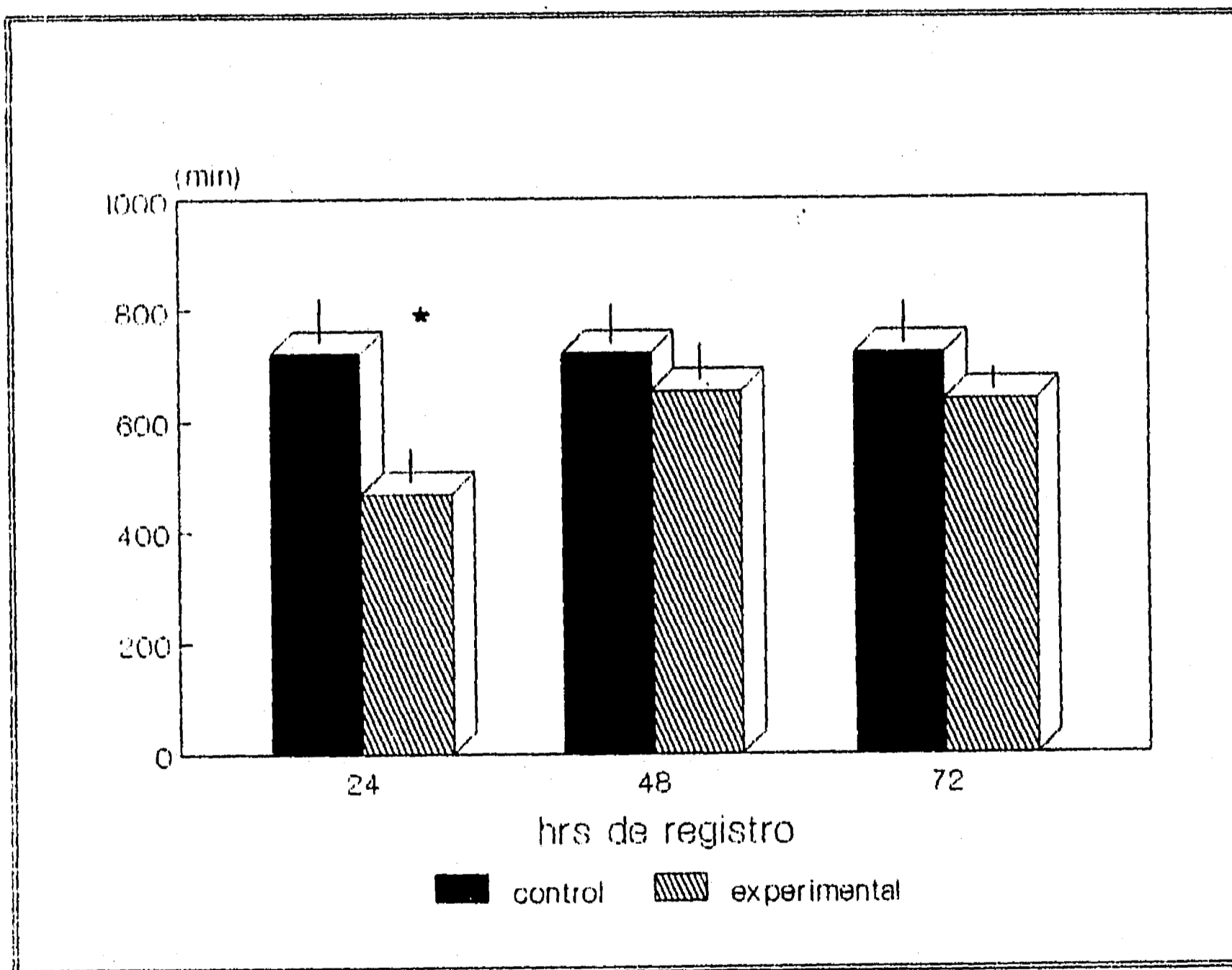


Figura 10. En la gráfica se muestra el efecto provocado por la administración de PCPA sobre el tiempo total de sueño pasivo de la iguana C. pectinata, a lo largo de las 72 hrs de registro (* $p < 0.05$).

Como se puede observar en la figura 11, el análisis del efecto acumulado hora por hora muestra que durante las primeras 24 horas que siguieron a la inyección de la PCPA, la fase de sueño pasivo de la iguana Ctenosaura pectinata, se vió disminuida significativamente en comparación con el control.

Mientras que durante las 48 y 72 horas que siguieron a la administración del fármaco ya no se observaron modificaciones importantes.

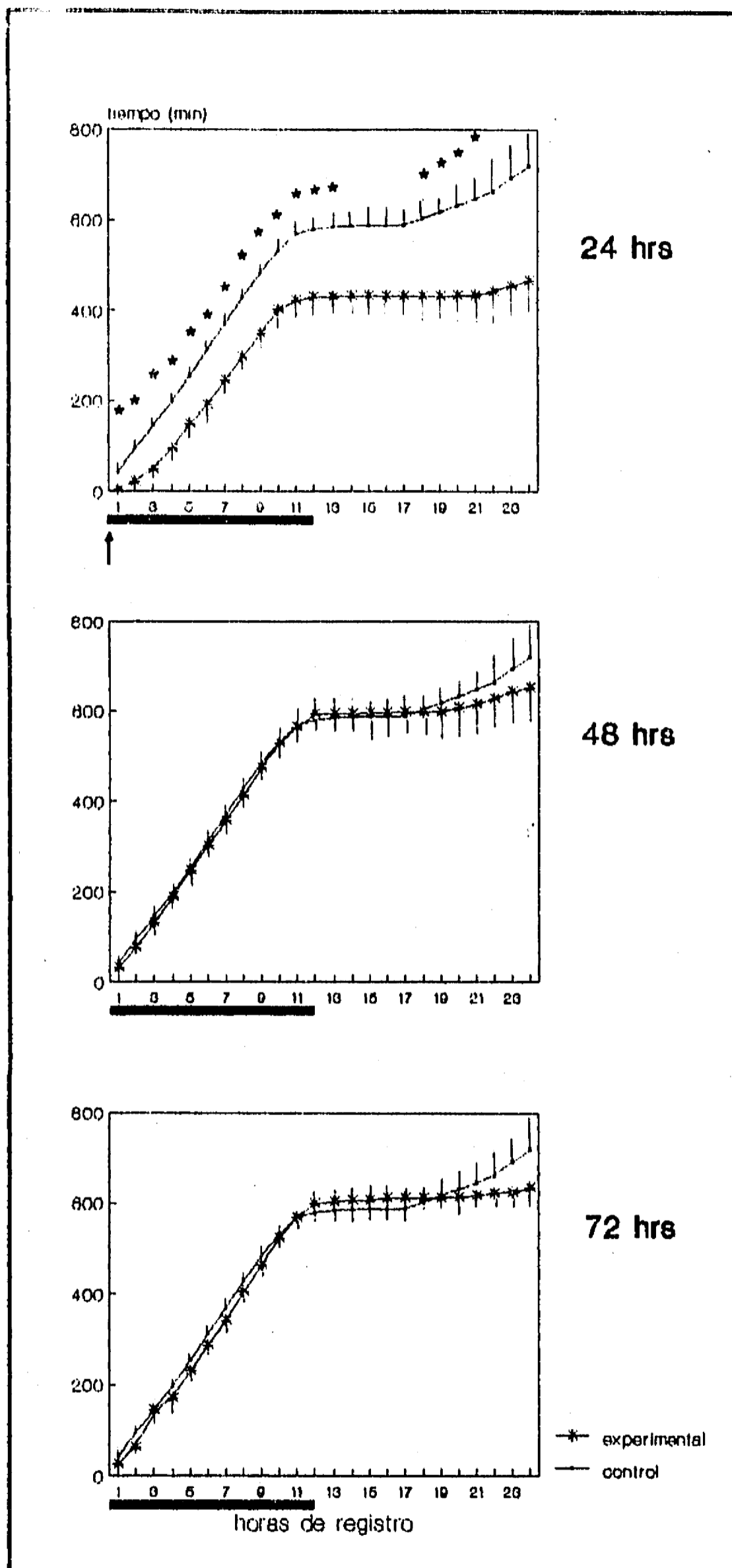


Figura 11. Tiempo acumulado en la fase de sueño pasivo de la iguana C. pectinata, a lo largo del registro experimental. La flecha indica el momento de la inyección de la PCPA. Nótese que durante el período luminoso la pendiente de las curvas disminuye. La barra negra indica la fase obscura del ciclo. (* $p < 0.05$)

En relación al efecto de la PCPA sobre el número total de espigas que se registraron durante la fase de sueño pasivo de la iguana C. pectinata, encontramos que éstas disminuyeron en comparación con el control, durante las primeras 24 horas de registro experimental (Cuadro 3). Mientras que su frecuencia se vió disminuida a lo largo de las 72 horas de registro (Cuadro 3).

	NUMERO TOTAL DE ESPIGAS		FRECUENCIA		
	CONTROL	EXPERIMENTAL	CONTROL	EXPERIMENTAL	
24 HORAS DE REGISTRO	1106.5	682.5	38.75 ± 1.51	19.75 ± 0.76	*
48 HORAS DE REGISTRO	-	1160	-	25.55 ± 0.97	*
72 HORAS DE REGISTRO	-	1064	-	23.75 ± 0.80	*

Cuadro 3. Los datos representan el número total y la frecuencia promedio de espigas por minuto obtenidas en 2 ejemplares de la iguana C. pectinata, durante su fase de sueño pasivo antes y después de la inyección de la PCPA (* p < 0.05).

Por otra parte, la PCPA provocó una disminución significativa en el tiempo total de sueño activo durante el primer período de 24 horas, seguido de una recuperación que rebasó el nivel control 72 horas post-inyección (Figura 12).

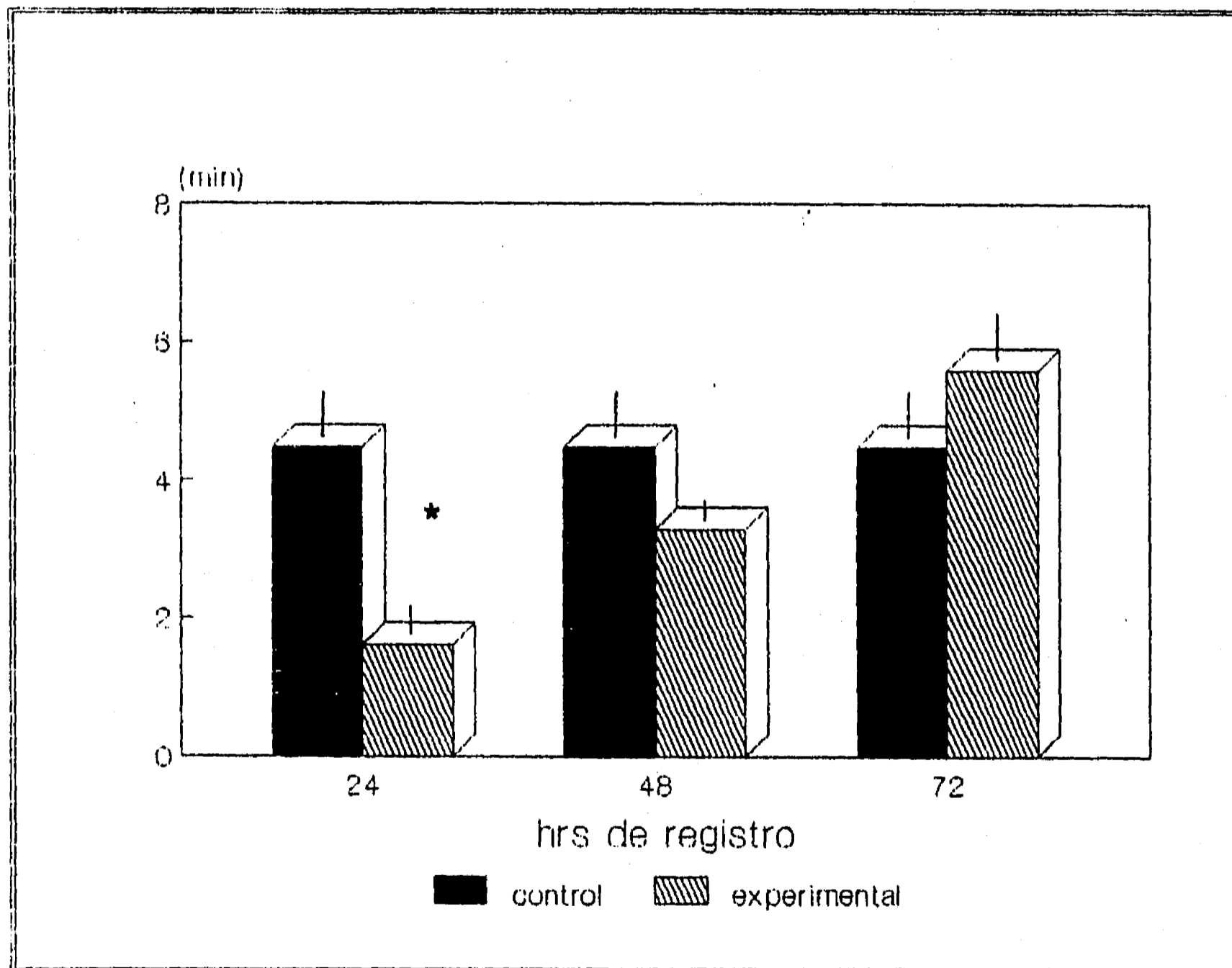


Figura 12. Obsérvese como la PCPA provocó una disminución en el tiempo total de sueño activo seguido de una recuperación. (* $p < 0.05$)

En relación al tiempo acumulado en la fase de sueño activo, se observó que durante las primeras 24 horas y 48 horas que siguieron a la inyección de la PCPA, esta acumulación se vió disminuida en comparación con el control (Figura 13). Sin embargo, el análisis estadístico indicó que sólo durante las primeras 24 horas dicho decremento fue significativo.

Con respecto al transcurso del tercer día de registro experimental, se observó al final de la fase obscura del nictémero, un repunte que sobrepaso al control en el tiempo acumulado de sueño activo (Figura 13), el cual se mantuvo durante la fase luminosa.

A pesar de que dicho repunte no fue estadísticamente significativo, su existencia, aunado al aumento significativo en la duración promedio de la fase de sueño pasivo a lo largo de las 72 horas de registro experimental (cuadro 5), nos da la pauta para pensar en un rebote compensatorio a la falta de sueño ocasionada por la PCPA (ver discusión).

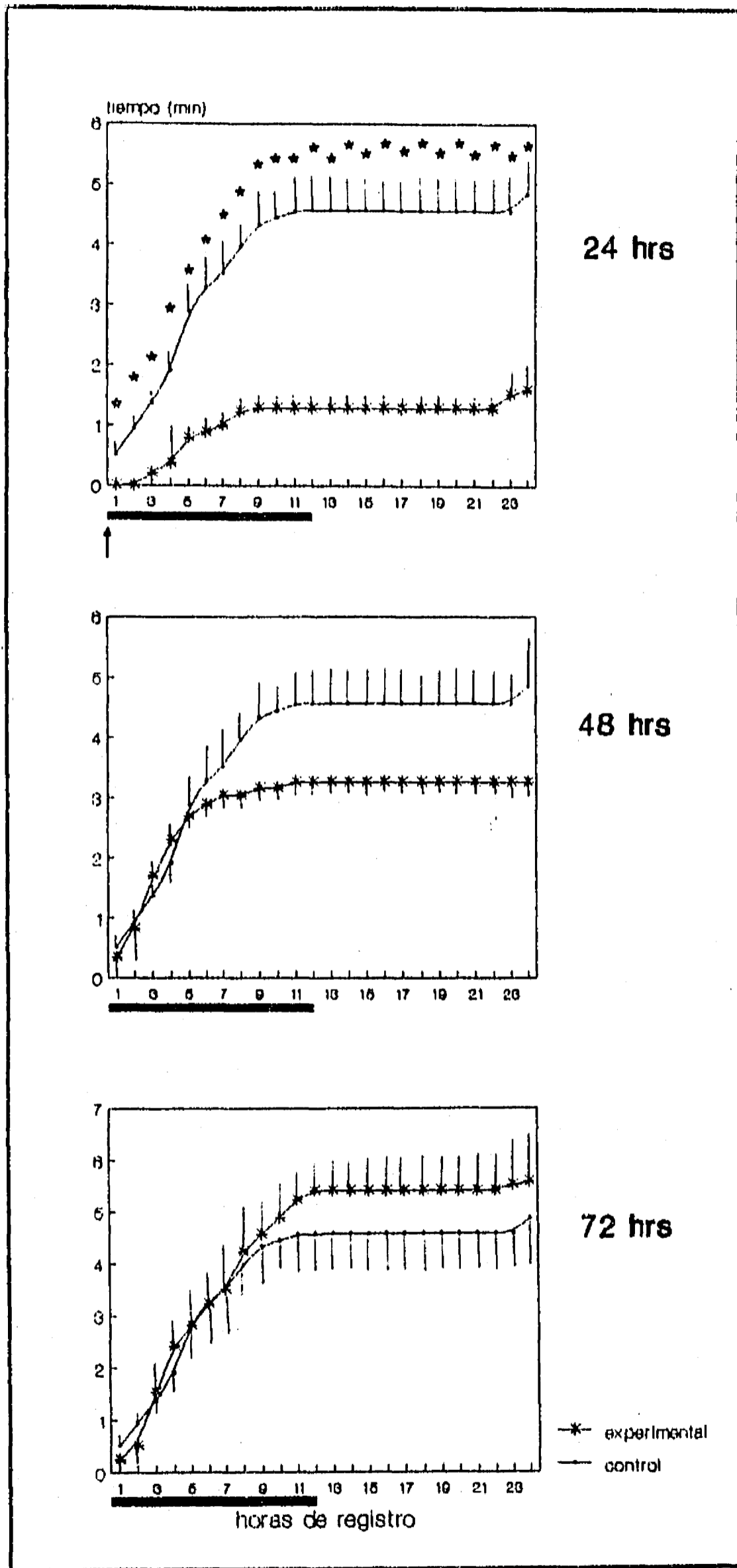


Figura 13. En las gráficas se muestra el tiempo acumulado en la fase de sueño activo del reptil *C. pectinata* a través de los tres días de registro experimental. La flecha indica el momento de la administración de la PCPA. (* $p < 0.05$)

La disminución en la cantidad de sueño activo que se dió después de la inyección de la PCPA, se debió a un decremento en el número de fases de este tipo de sueño (Cuadro 4). Sin embargo, sólo durante los dos primeros días que siguieron a la inyección hubo diferencias significativas.

	CONTROL	EXPERIMENTAL
24 HORAS DE REGISTRO	48 FASES ± 3.4	8 FASES * ± 0.8
48 HORAS DE REGISTRO	-	18 FASES * ± 0.6
72 HORAS DE REGISTRO	-	38 FASES ± 5.2

Cuadro 4. Número de fases de sueño activo durante las tres noches de registro experimental (* p < 0.05).

Al mismo tiempo que disminuía su frecuencia, la duración promedio de la fases de sueño activo (Cuadro 5) mostró un aumento significativo a lo largo de las 24, 48 y 72 horas de registro experimental. Siendo mayor el efecto a las 24 horas post-inyección.

	CONTROL	EXPERIMENTAL
24 HORAS DE REGISTRO	5.97 SEG ± 0.6	11.77 SEG * ± 1.9
48 HORAS DE REGISTRO	-	10.66 SEG * ± 0.3
72 HORAS DE REGISTRO	-	8.85 SEG * ± 0.3

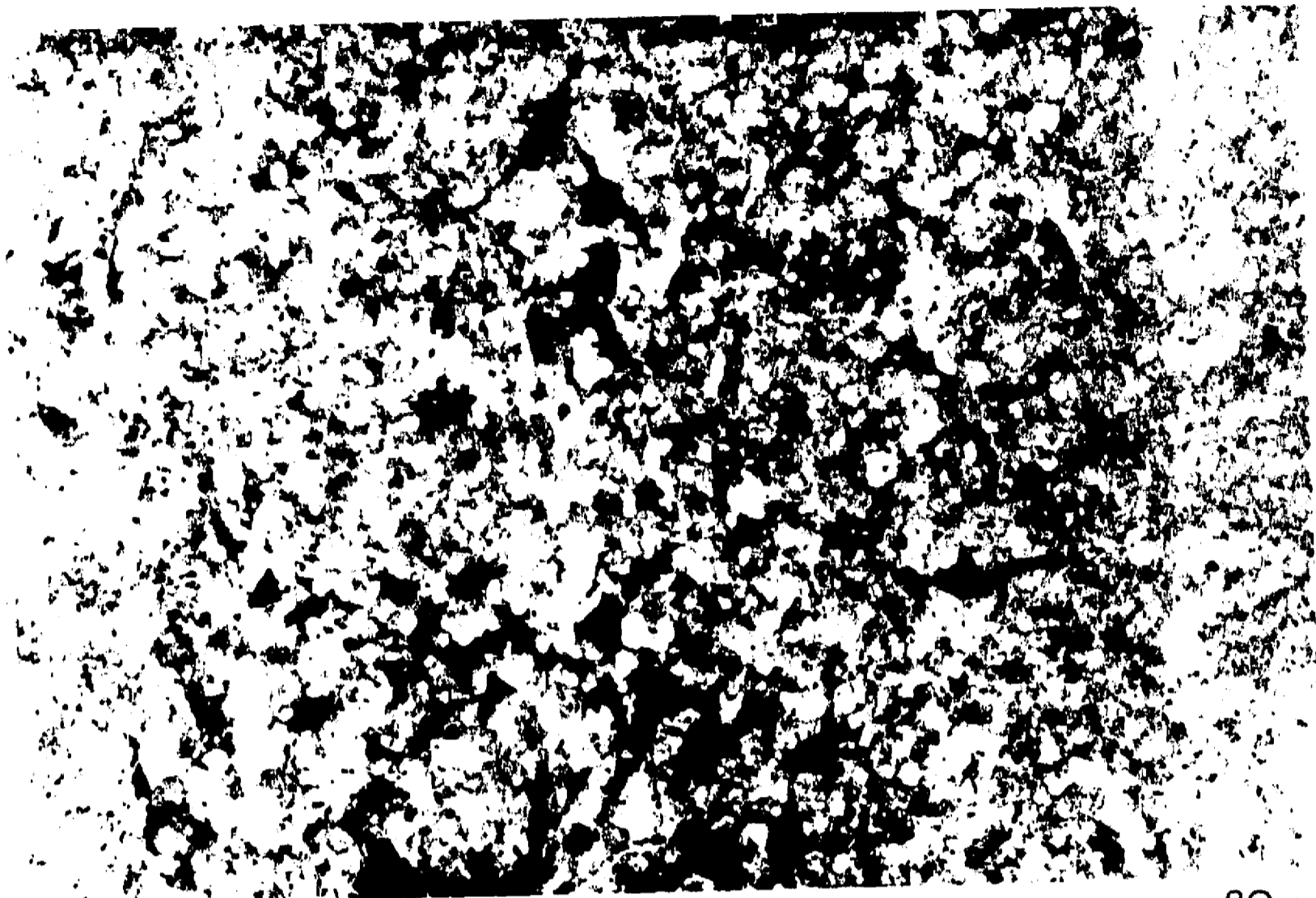
Cuadro 5. Duración promedio de la fase de sueño activo, registrada antes y después de la administración de PCPA.
(* p < 0.05)

Estudio inmunocitoquímico.

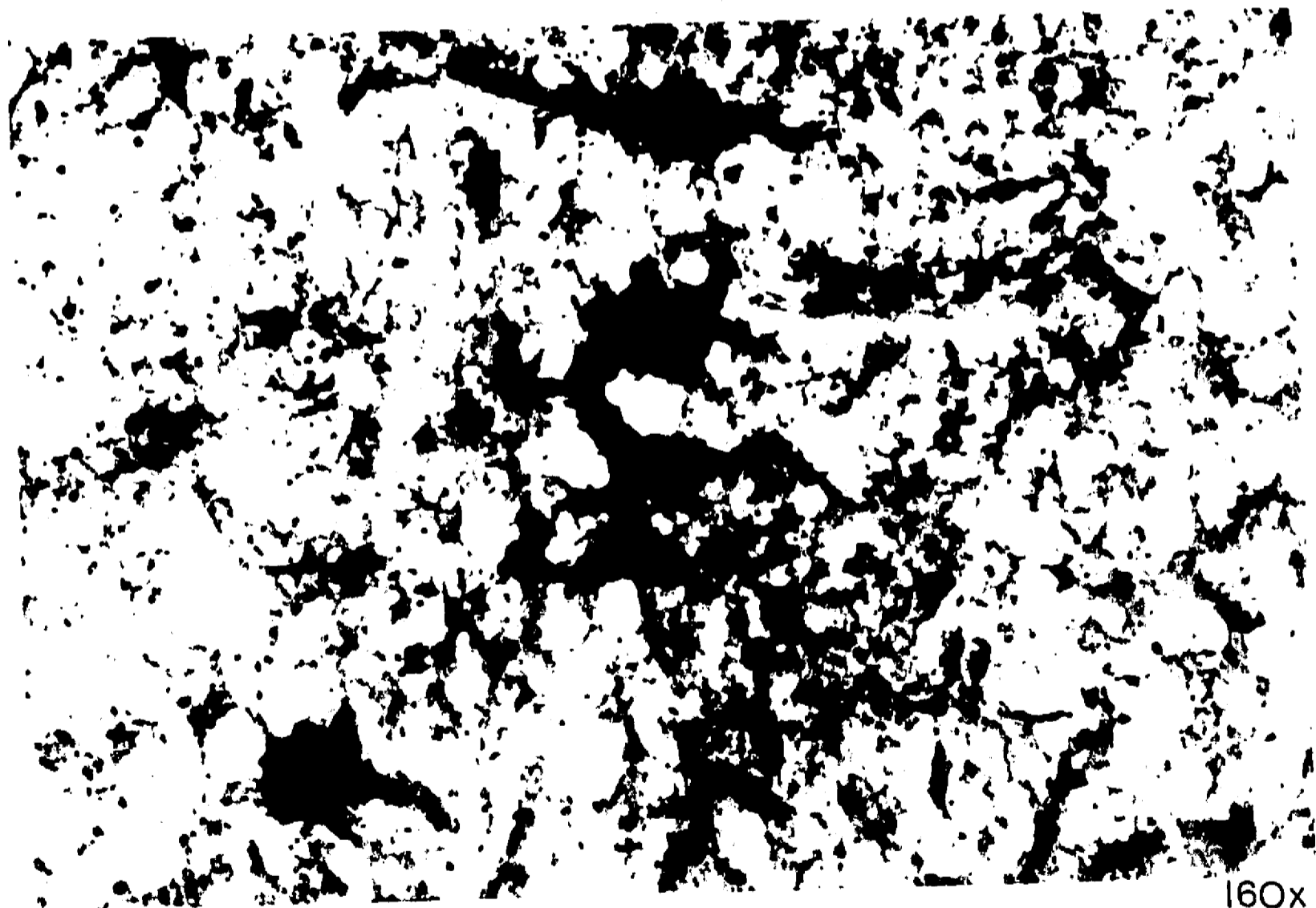
El análisis realizado del tejido cerebral de la iguana que no se trató con PCPA, mostró que los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas se concentran en la línea media del tronco cerebral, correspondiendo a la zona en donde se localizan las neuronas de los núcleos del rafe. Estas neuronas, cuyo marcaje de color café se debe a la reacción de los anticuerpos y peroxidasa con su contenido serotoninérgico, se distribuyen rostro caudalmente, desde la porción caudal del tegmentum mesencefálico hasta la región posterior del bulbo raquídeo, correspondiendo a los núcleos del rafe superior (Figuras 14, 15), y a los núcleos del rafe inferior (Figuras 18, 19).

El estudio detallado de dichos núcleos mostró que las neuronas del rafe superior son multipolares o fusiformes, teniendo un eje menor promedio de $13.19 \mu\text{m}$ ($\pm 3.23 \mu\text{m}$), y un eje mayor promedio de $29.26 \mu\text{m}$ ($\pm 5.57 \mu\text{m}$). Por otro lado, se observó que las neuronas del rafe inferior, son también fusiformes o multipolares, presentando un eje menor promedio de $14.83 \mu\text{m}$ ($\pm 8.23 \mu\text{m}$), y un eje mayor promedio de $28 \mu\text{m}$ ($\pm 3.5 \mu\text{m}$).

El tejido cerebral de la iguana tratada con PCPA mostró una disminución notable en el grado de marcaje efectuado por la peroxidasa, lo que nos indica de manera indirecta, que hubo una disminución en el contenido de serotonina de los núcleos del rafe superior (Figuras 16, 17), e inferior (Figuras 20, 21), después de la aplicación de dicho fármaco.



80x



160x

Figura 14. Fotomicrografías en las que se observa el marcaje café-rojizo en las neuronas del núcleo del rafe superior, el cual se dá como resultado de su contenido serotoninérgico.

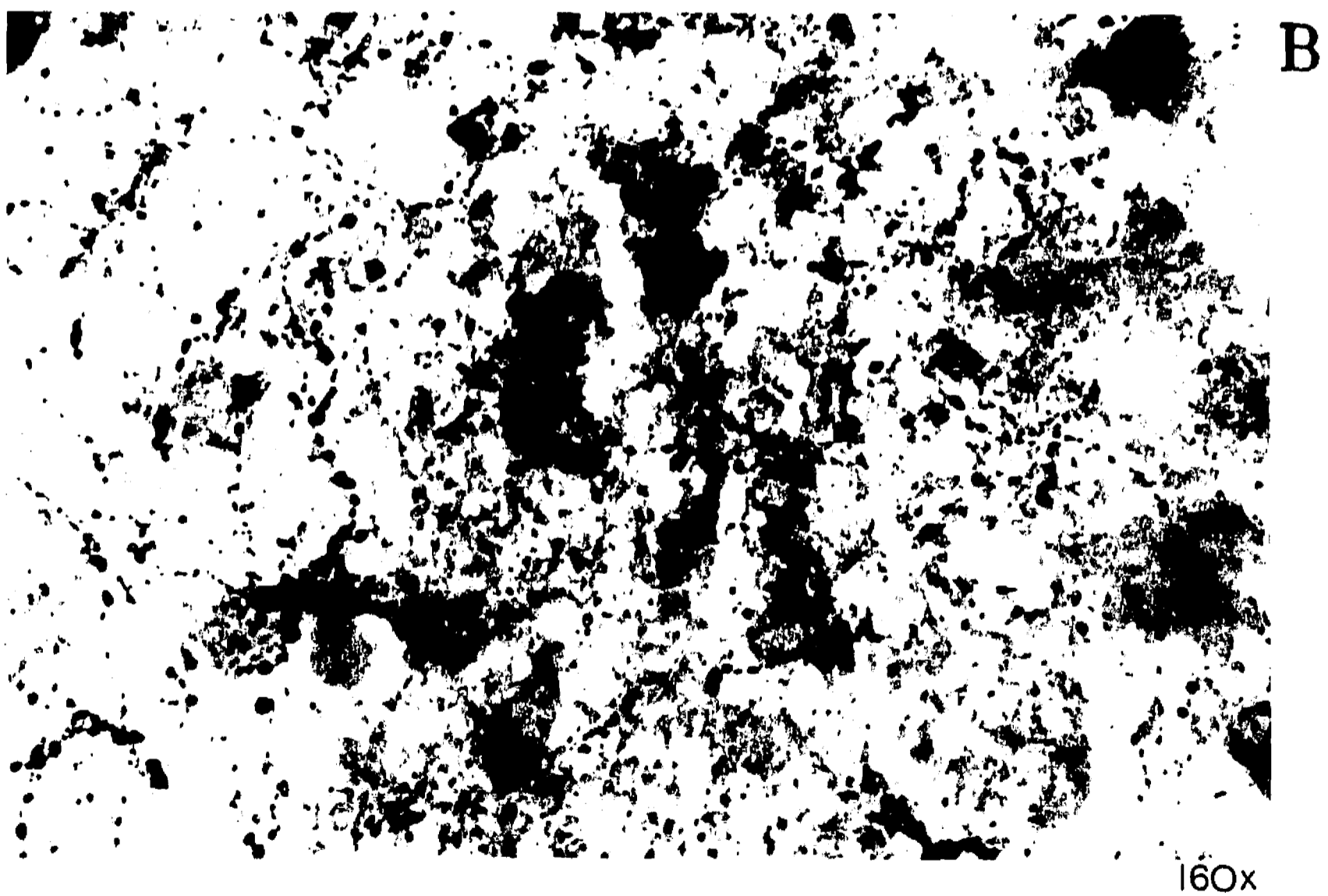
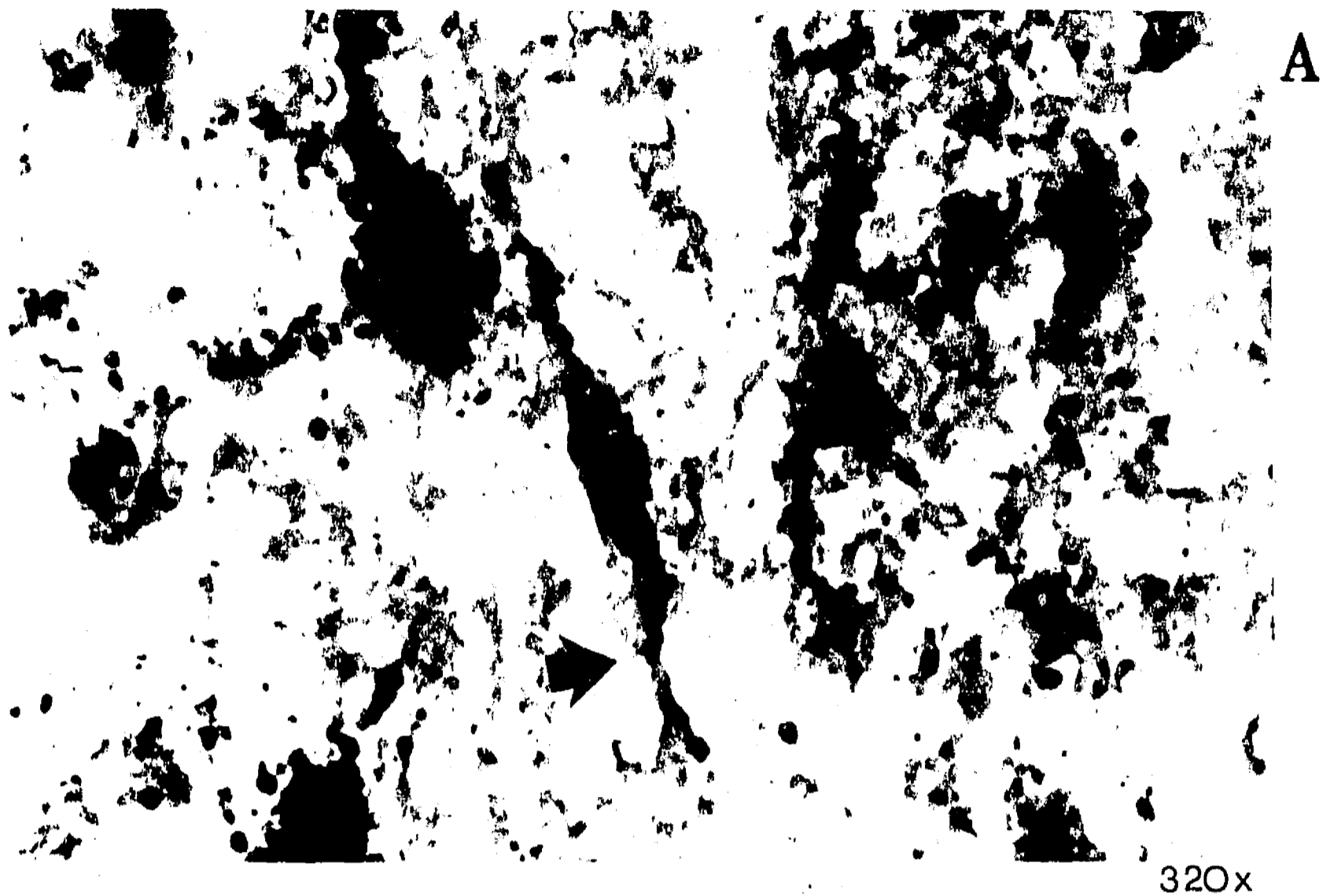
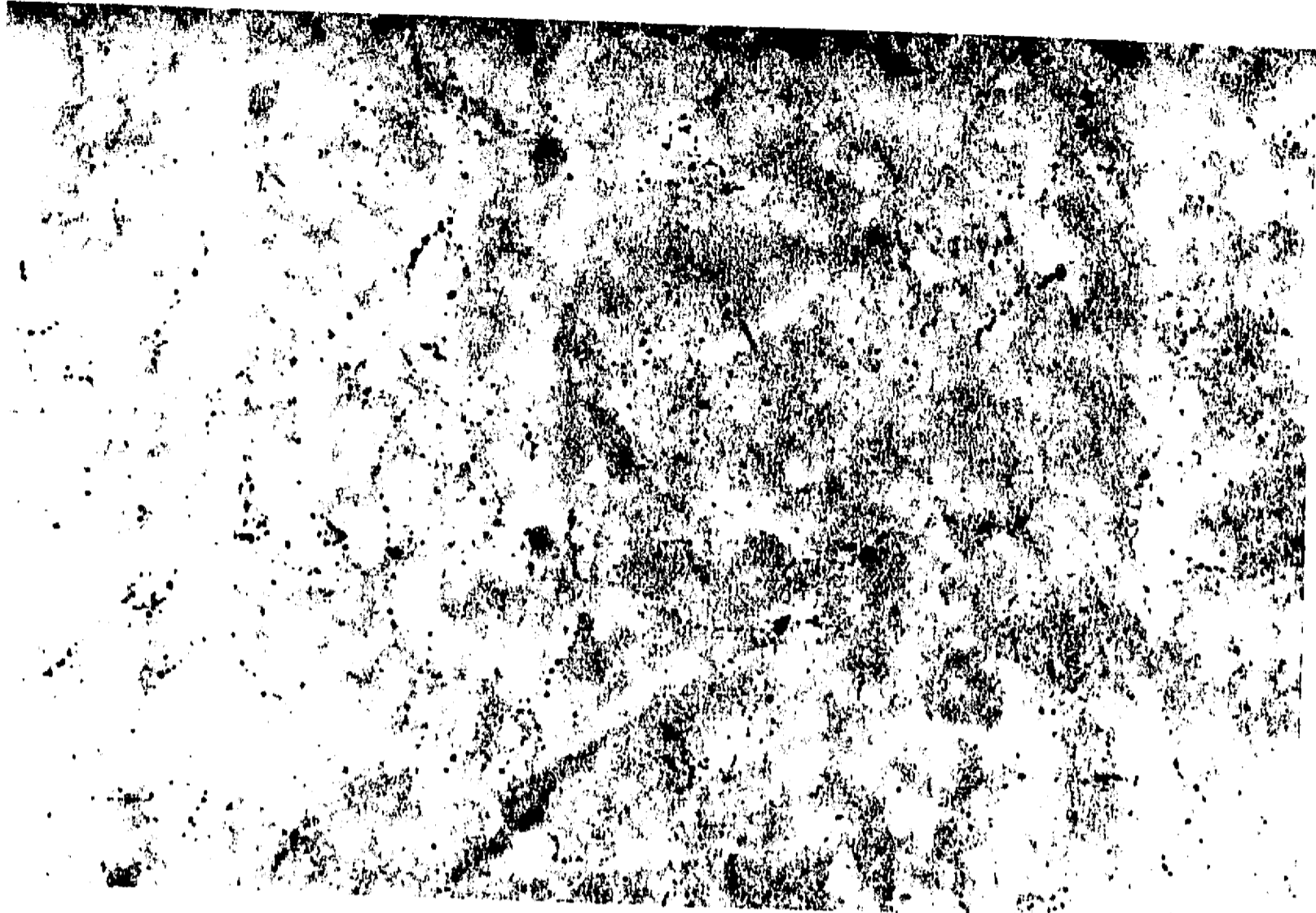
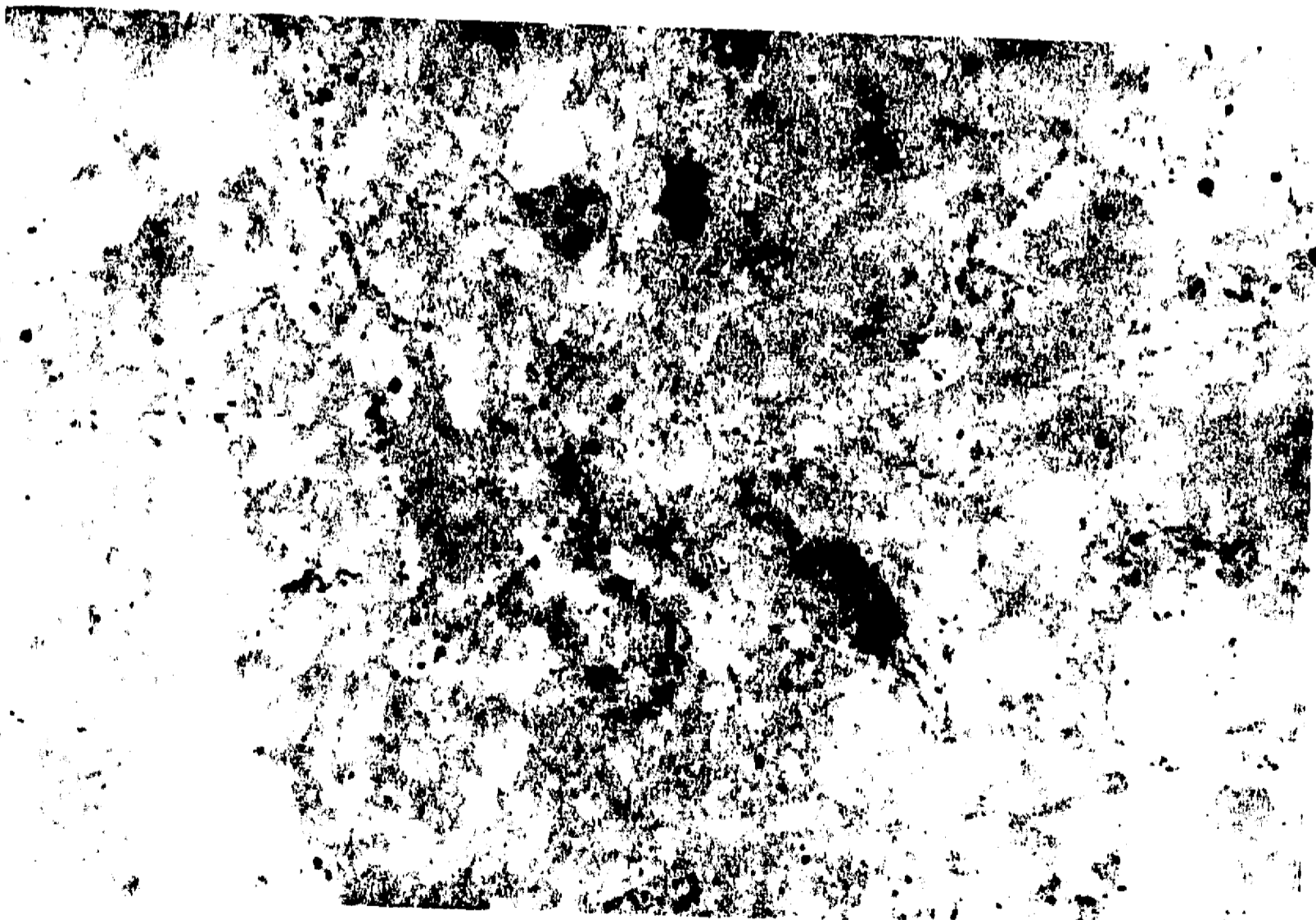


Figura 15. En A la flecha indica la unión que se dá entre una dendrita serotoninérgica del rafe superior y un vaso sanguíneo. En B se observan además de los cuerpos neuronales, "rosarios" de fibras que contienen serotonina.

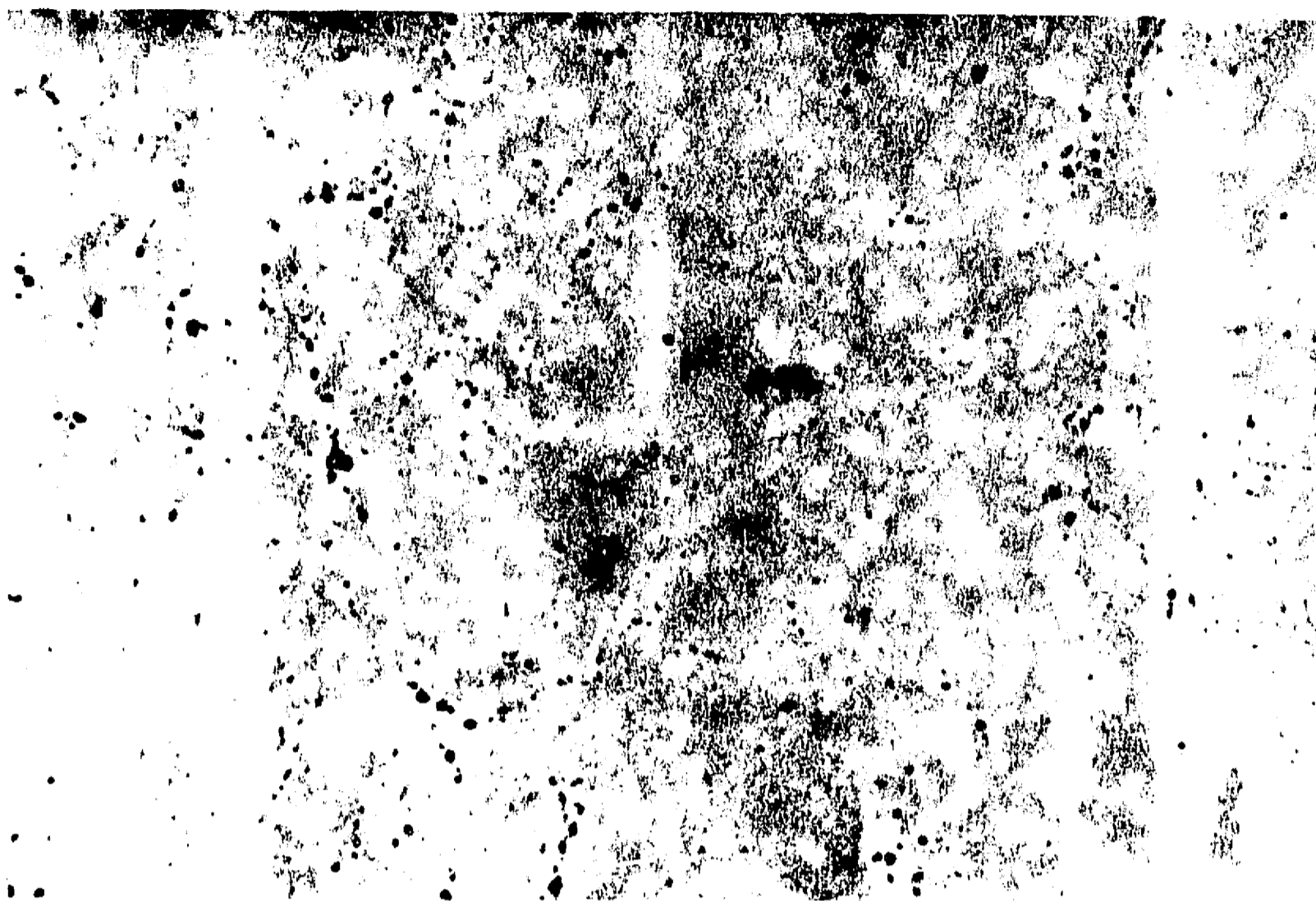


80x

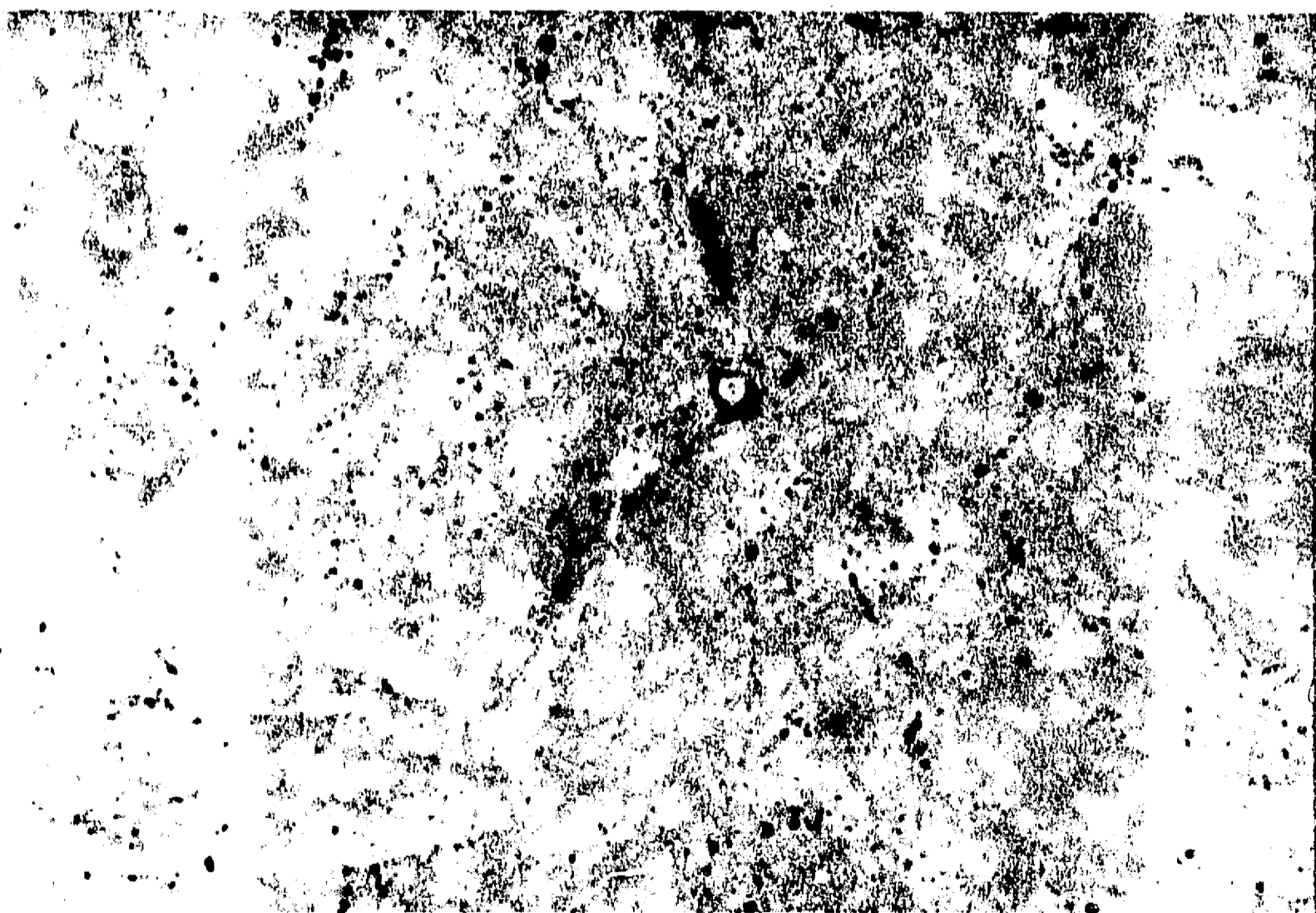


160x

Figura 16. Fotomicrografías del núcleo del rafe superior después de la inyección de la PCPA

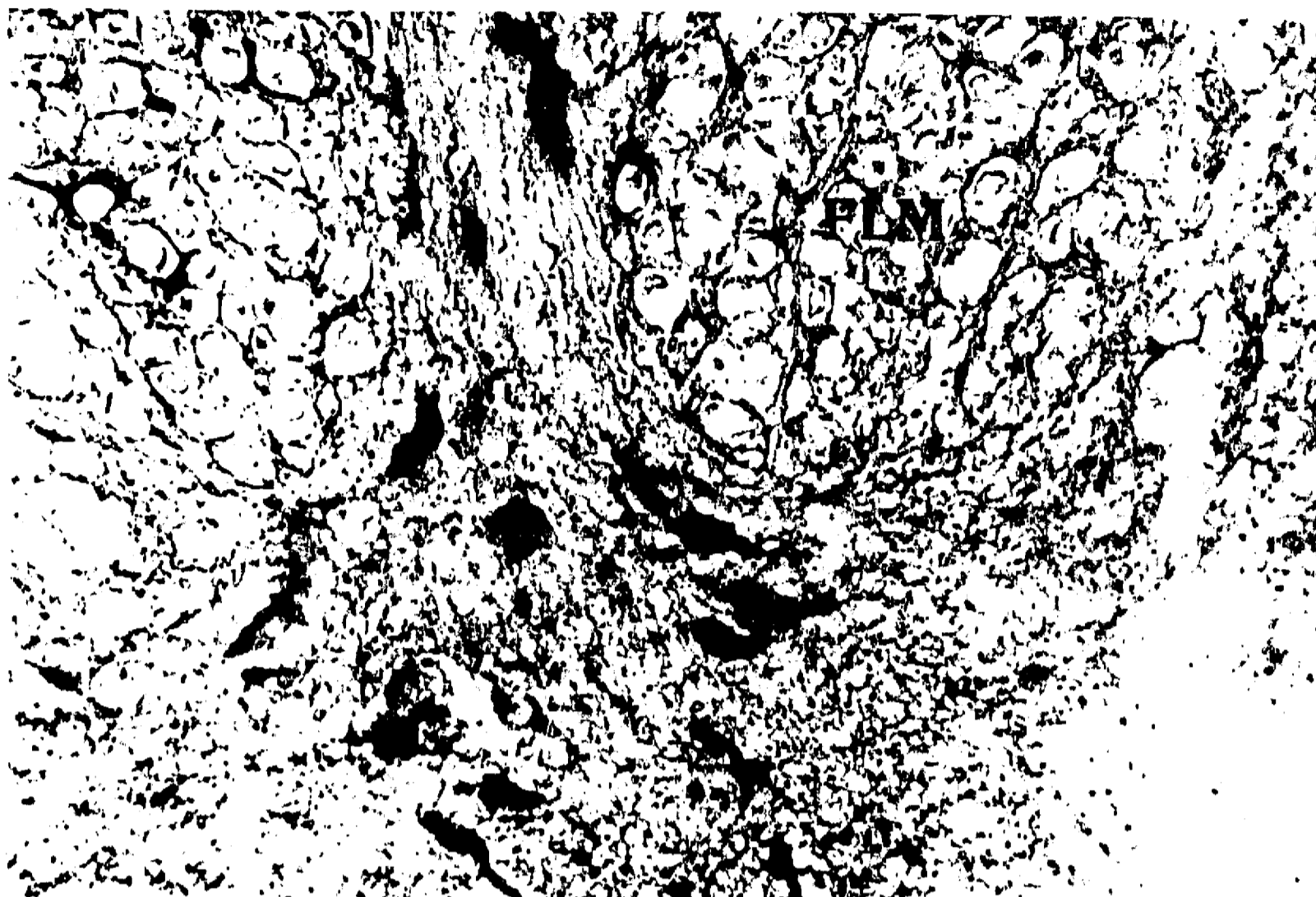


160x

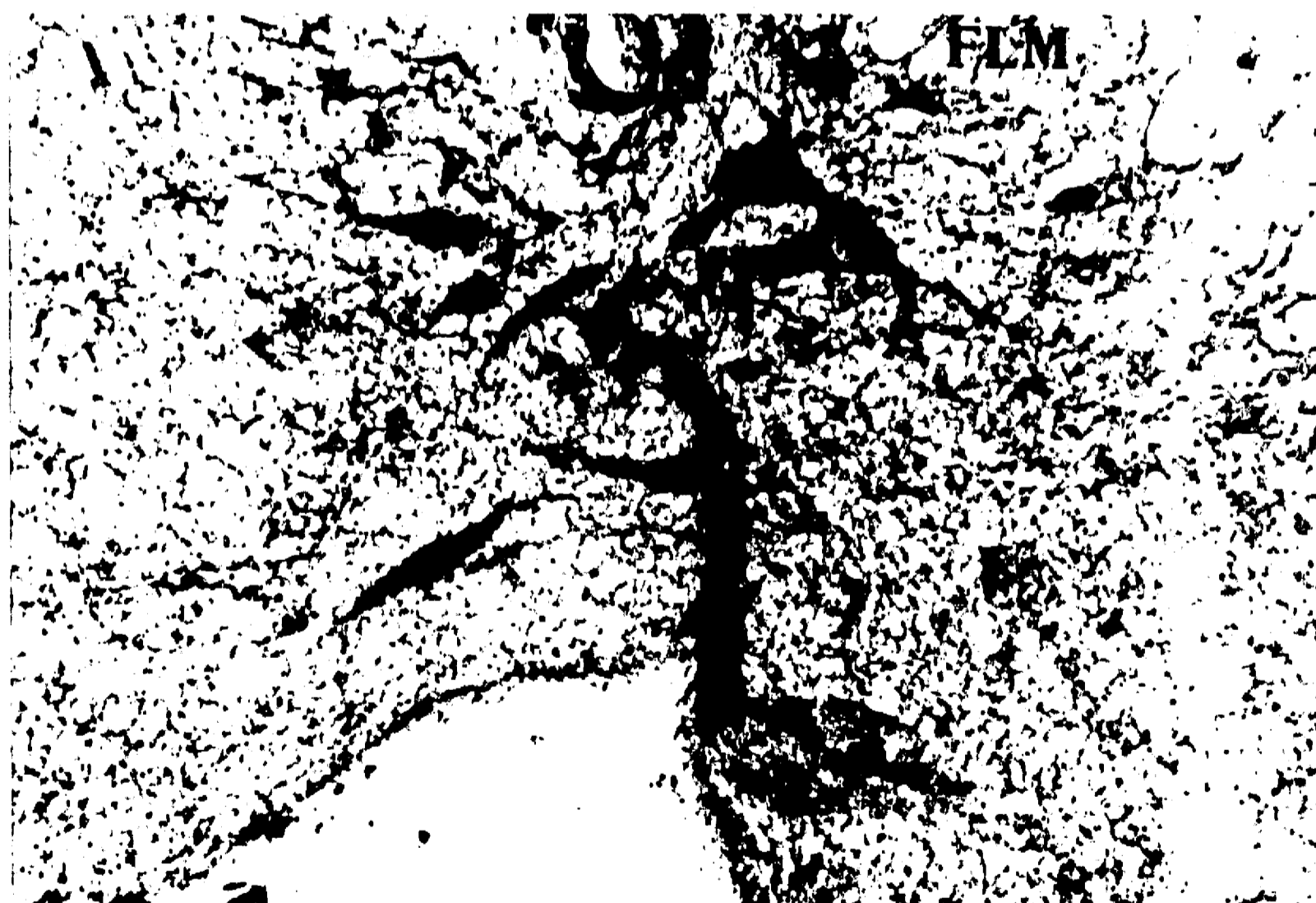


160x

Figura 17. Después de la administración de la PCPA, el marcaje café-rojizo en los núcleo del rafe superior no es tan intenso como el que se observa en las iguanas no tratadas con dicho fármaco.



80 x



80x

Figura 18. Fotomicrografías del núcleo del rafe inferior de la iguana C. pectinata. El marcaje café-rojizo indica de manera indirecta su contenido de serotonina. (FLM, fascículos longitudinales mediales).

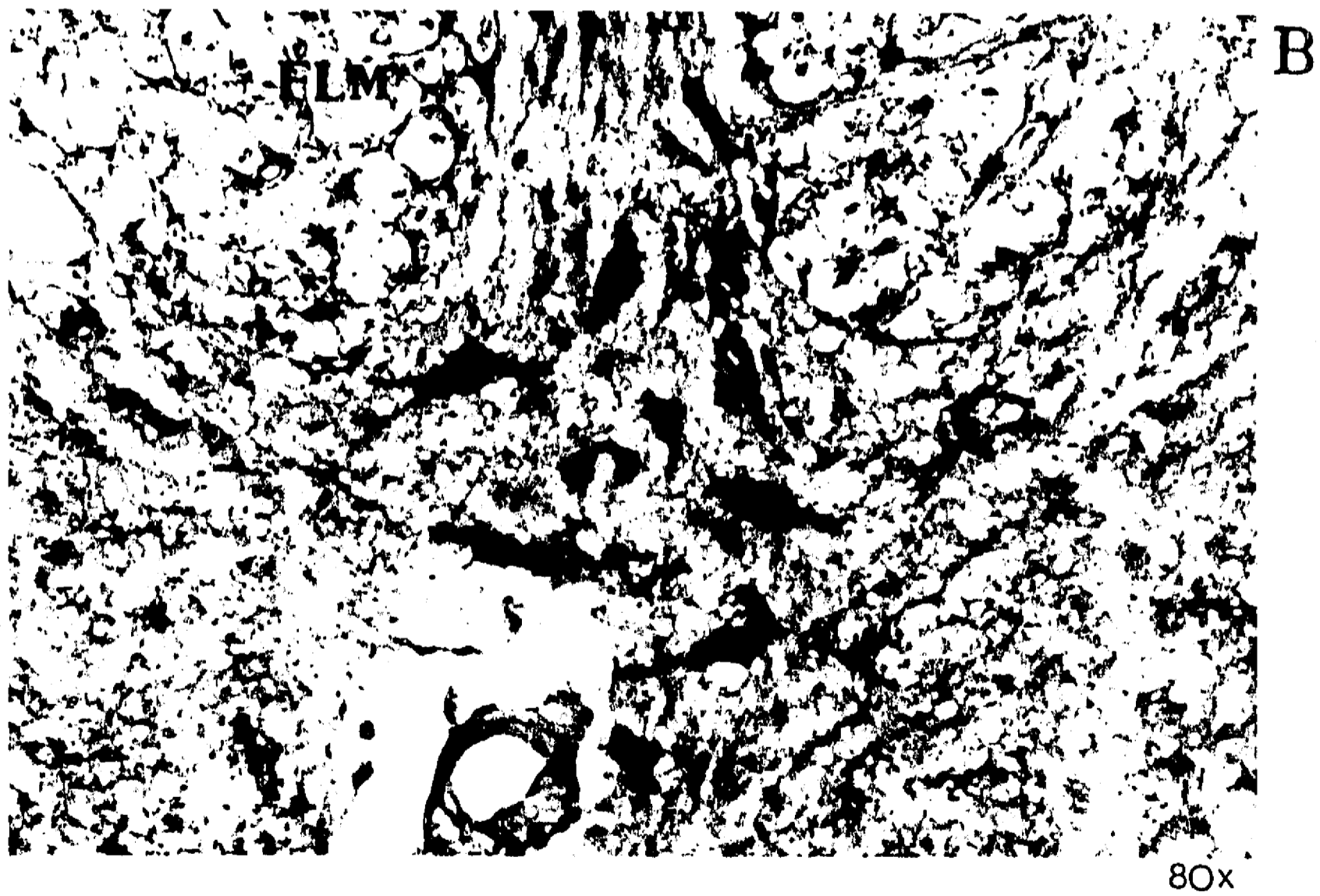
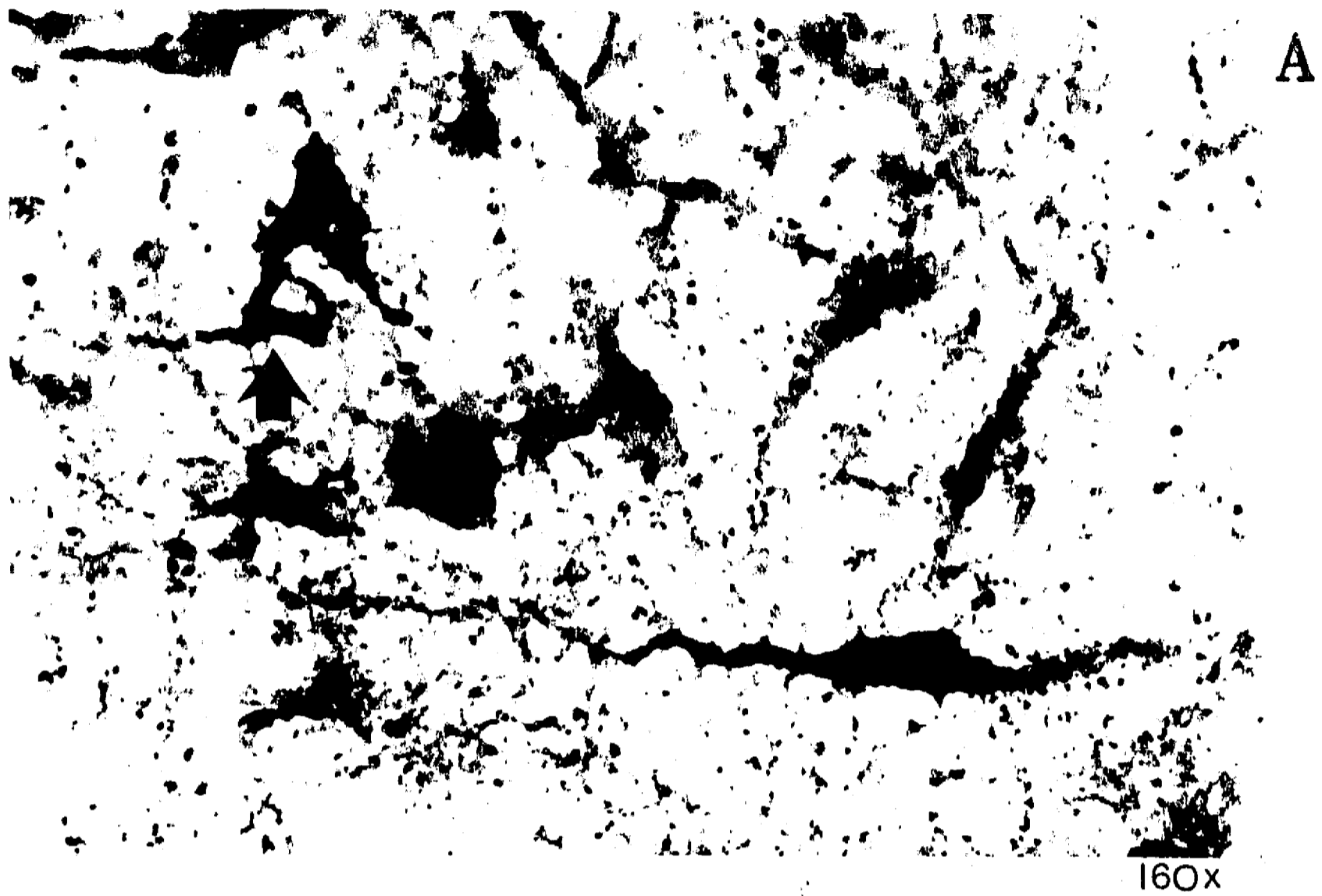
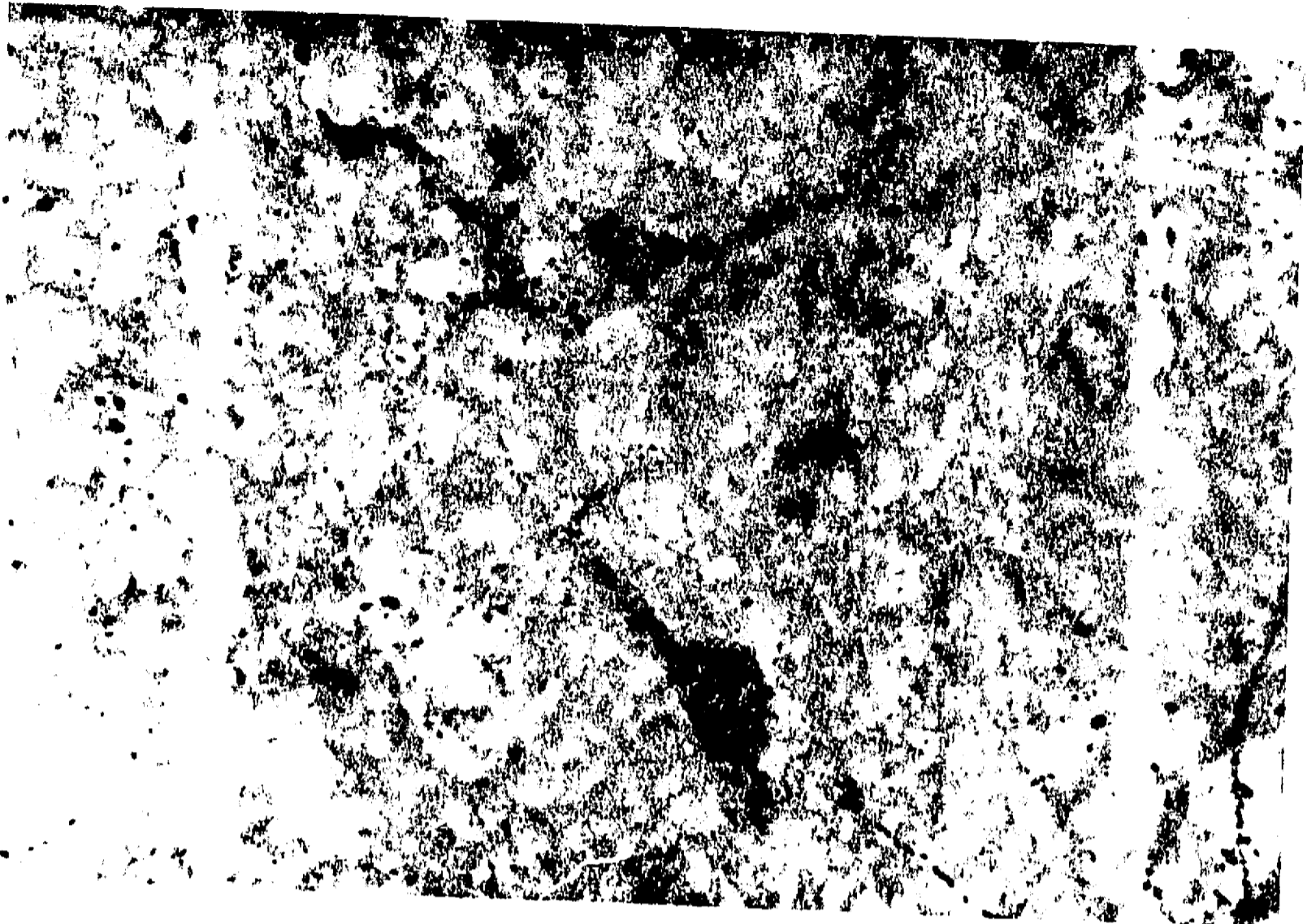
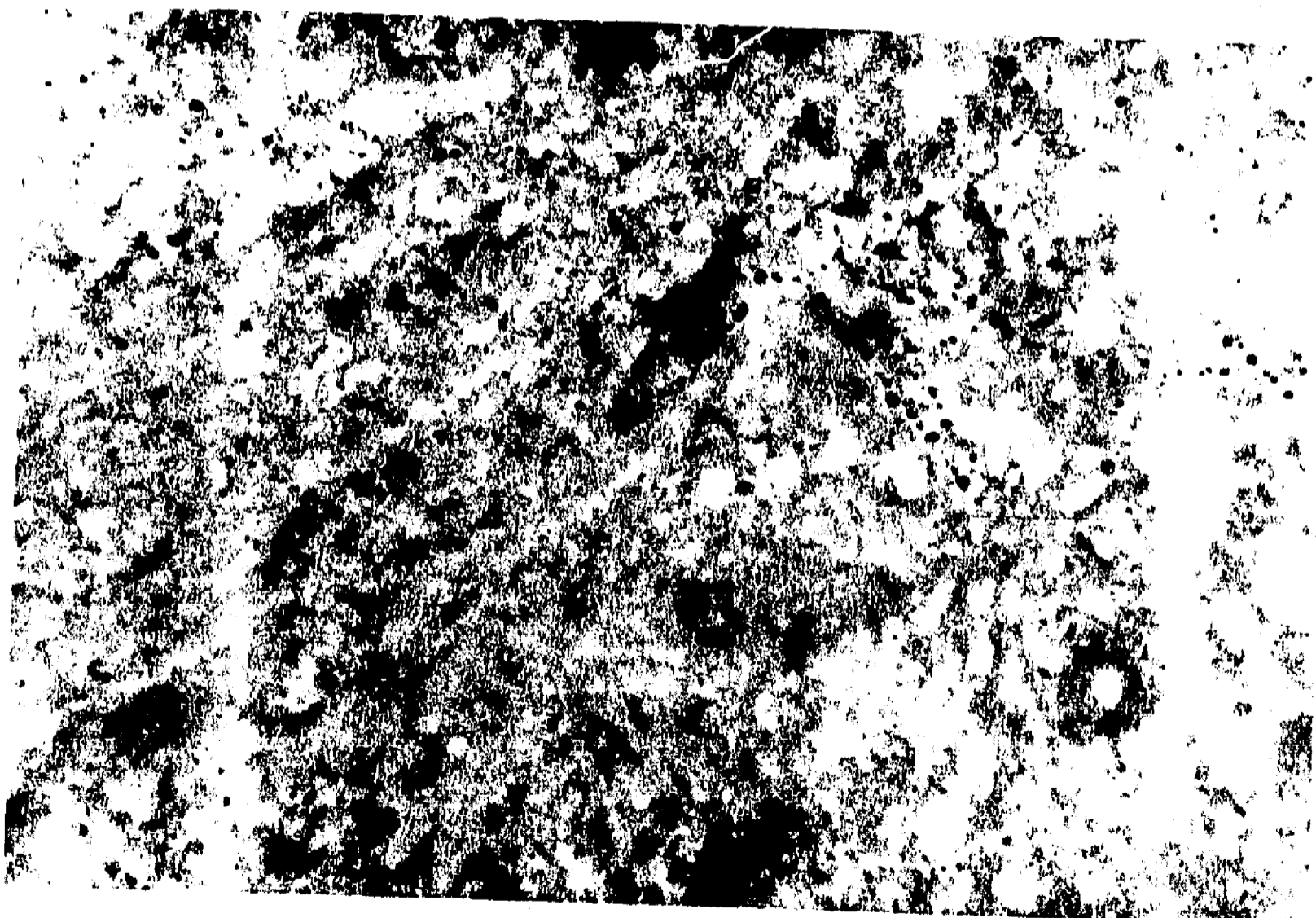


Figura 19. Fotomicrografías del rafe inferior. En A la flecha muestra la adhesión de una fibra serotoninérgica con un vaso sanguíneo. (FLM, fascículos longitudinales mediales).

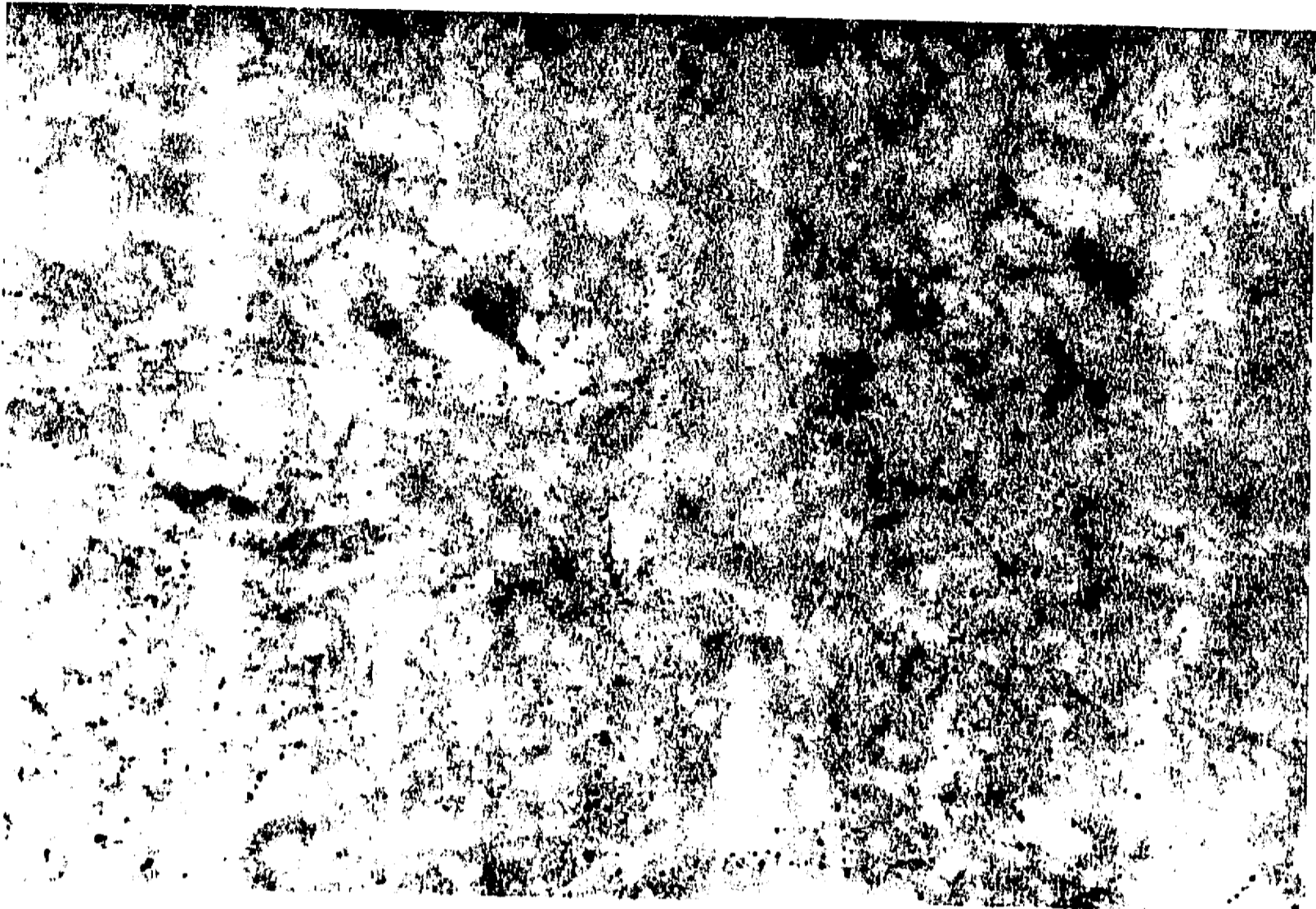


160x

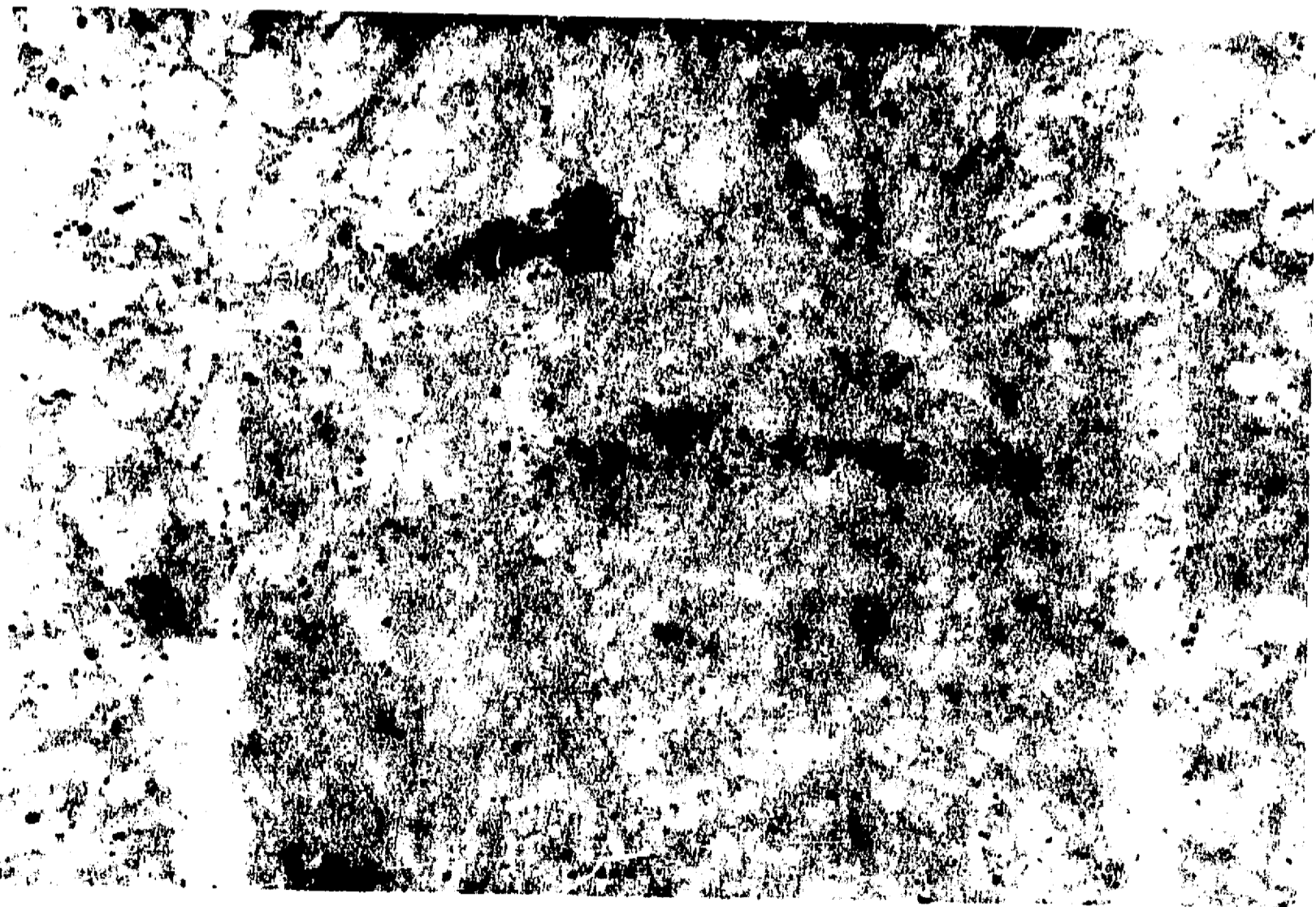


160x

Figura 20. Fotomicrografías del aspecto que muestran las neuronas del rafe inferior después de la inyección de la PCPA.



80x



160x

Figura 21. Con la administración de la PCPA el marcaje café-rojizo de las neuronas del rafe inferior se hace menos intenso que el que se observa en el tejido control.

Estudios neuroquímicos.

El estudio neuroquímico mostró la carencia de una distribución homogénea en la concentración de serotonina, noradrenalina y dopamina (Cuadro 6), a lo largo del tronco cerebral de C. pectinata.

	SEROTONINA µg/g	NORADRENALINA µg/g	DOPAMINA µg/g
BULBO RAQUIDEO	1.915 ±0.13	0.555 ±0.04	0.310 ±0.03 ****
PUENTE	* 2.515 ±0.22	** 1.296 ±0.24	*** 0.304 ±0.03
MESEN- CEFALO	1.798 ±0.14	0.393 ±0.07	0.152 ±0.02

Cuadro 6. Los números indican las concentraciones promedio de serotonina, noradrenalina y dopamina a lo largo del tronco cerebral de la iguana de este estudio.

* p < 0.05 puente vs mesencéfalo, pero no vs bulbo raquídeo.

** p < 0.05 puente vs bulbo raquídeo y mesencéfalo.

*** p < 0.05 puente vs mesencéfalo, pero no vs bulbo raquídeo.

**** p < 0.05 bulbo raquídeo vs mesencéfalo, pero no vs puente.

Por otra parte, con este estudio se cuantificó una disminución del contenido de serotonina de los núcleos del rafe de C. pectinata después de la administración de PCPA, observándose que la concentración de dicho neurotransmisor disminuyó de manera significativa a lo largo de las tres zonas que constituyen el tronco cerebral de los reptiles (Cuadro 7), mientras que las concentraciones de noradrenalina y dopamina que se midieron conjuntamente con la 5-HT, no mostraron modificaciones significativas.

	SEROTONINA μg/g		NORADRENALINA μg/g		DOPAMINA μg/g	
	CONTROL	PCPA	CONTROL	PCPA	CONTROL	PCPA
BULBO RAQUI- DEO	1.915 ±0.13	1.439 ±0.10	0.555 ±0.04	0.599 ±0.07	0.310 ±0.03	0.465 ±0.21
PUENTE	2.515 ±0.22	1.571 ±0.15	1.296 ±0.24	1.052 ±0.22	0.304 ±0.08	0.309 ±0.06
MESEN- CEFALO	1.798 ±0.14	1.175 ±0.08	0.393 ±0.07	0.293 ±0.01	0.152 ±0.02	0.117 ±0.01

Cuadro 7. Valores promedio de las concentraciones de tres monoaminas detectadas en el tronco cerebral de C. pectinata. Los valores indicados para la PCPA, corresponden a lo obtenido 12 horas después de su administración.

* p < 0.05

** p < 0.01

DISCUSION.

En los reptiles se ha discutido de manera muy intensa la existencia del sueño. Esto se debe principalmente a que desde el punto de vista electroencefalográfico, no se han encontrado evidencias claras de la presencia de alguna de las dos fases de sueño descritas para los vertebrados homeotermos. Sin embargo, es importante considerar que el encéfalo de los reptiles ha alcanzado una complejidad evolutiva diferente a la del encéfalo de aves y mamíferos, lo que puede ser reflejado en patrones electroencefalográficos diferentes.

Un hecho claro en apoyo de ésto es que, como se sabe en los mamíferos la neocorteza se sincroniza funcionalmente con estructuras subcorticales (Culebras, 1992), para dar origen a la fase de sueño de ondas lentas, mientras que en los reptiles no existe una neocorteza, y es sólo en algunas especies de cocodrilos donde existe un primordio de dicha estructura (Mc New y col. 1971). Además, Vanderwolf y Stewart (1988), reportaron la existencia de circuitos endógenos en la neocorteza de los mamíferos que generan patrones irregulares de ondas lentas, por lo que la falta de esta estructura en los reptiles implica la ausencia de este tipo de ondas en sus patrones electroencefalográficos.

Por lo tanto, la falta de similitud entre la actividad cerebral de los mamíferos y los reptiles durante sus fases de sueño, implica únicamente la carencia en estos últimos, de las estructuras cerebrales que en los mamíferos se activan durante este estado de vigilancia, pero no la falta de sueño. Vanderwolf (1992), reportó que las ondas lentas que caracterizan al sueño

lento de los mamíferos deben ser consideradas como un epifenómeno que se registra durante dicho estado, y no como la causa por la que éste se presenta. Esta idea, había sido ya propuesta por Jouvét (1962), y Vanderwolf y col. (1978), los cuales reportaron que la separación quirúrgica de la corteza cerebral en los mamíferos, elimina las ondas lentas, pero no la conducta de sueño. Por lo que el fenómeno del sueño se inicia y organiza fundamentalmente a nivel subcortical.

Existen en la literatura algunos reportes de estudios electrofisiológicos llevados a cabo en varias especies de reptiles, en los que se aportan evidencias de la presencia de una o de las dos fases de sueño que hemos descrito en la iguana de en este trabajo. En la mayor parte de los casos, las fases de sueño que se describen para los reptiles en dichos trabajos han sido consideradas análogas a las fases de sueño de los vertebrados homeotermos, ya que en ambos grupos de organismos la frecuencia de la actividad cerebral, la actividad muscular, la actividad ocular y la actividad cardíaca sufren cambios similares (Flanigan, 1973; Huntley y col. 1987; Ayala-Guerrero y Vargas-Reyna, 1987; Ayala-Guerrero y Huitrón-Reséndiz, 1991 a, b).

En los reptiles del orden Squamata, se tienen los trabajos hechos en las iguanas Iguana iguana (Flanigan, 1973) y Ctenosaura pectinata (Tauber y col. 1968; Flanigan, 1973), siendo esta última la misma especie de iguana de este estudio. Sin embargo, es importante aclarar que mientras Tauber y colaboradores (1968) reportaron la presencia de la fase de sueño MOR para C. pectinata, Flanigan (1973), únicamente reportó la presencia de

la fase de sueño pasivo. Durante esta fase, la frecuencia y la amplitud de la actividad cerebral, así como el tono muscular y la frecuencia cardíaca disminuyen en comparación con la vigilia. Dichos resultados coinciden con lo observado en este trabajo. Sin embargo, en este estudio, además se identificó otra fase de sueño similar a la descrita por Tauber y col. (1968), en la que se observaron mioclonias e irregularidades cardíacas, que coinciden con rafagas de movimientos oculares y aceleración en la actividad cerebral. La identificación de estas dos fases de sueño en C. pectinata, corrobora lo reportado por otros autores (Ayala-Guerrero y Huitrón-Reséndiz, 1991 a, b).

Hay información en otras especies de reptiles acerca de la presencia de sueño pasivo y sueño activo. Así, los movimientos oculares rápidos, la elevación de la frecuencia cardíaca y la atonía muscular interrumpida por mioclonias, que se presentan durante la fase de sueño activo de la iguana de este estudio, han sido observadas en los camaleones Chamaleo melleri y Chamaleo jacksoni (Tauber y col. 1966), y en las iguanas Dipsosaurus dorsalis (Huntley y col. 1977), y Ctenosaura similis (Ayala-Guerrero y Vargas-Reyna, 1987).

En algunas especies de reptiles del orden Crocodylia, también se han descrito modificaciones electrofisiológicas similares a las observadas en la iguana de este estudio durante sus fases de sueño. En el caimán sudamericano Caiman sclerops (Flanigan y col. 1973; Warner y Huggins, 1978), la fase de sueño pasivo se caracterizó por una actividad cerebral lenta, un tono muscular abatido y una frecuencia cardíaca baja. Por otro lado, en el caimán Caiman latirostris (Peyreton y Dusan-Peyreton,

1969), se observó durante la fase de sueño activo una aceleración en la actividad cerebral, atonía muscular, movimientos oculares rápidos y frecuencia cardíaca acelerada.

En los Quelonios Testudo marginata (Herman y col. 1964), Terrapene carolina (Flanigan y col. 1974) y Geochelone carbonaria (Hartse y Rechtschaffen, 1974), también se han observado patrones electrofisiológicos idénticos a los descritos en los otros grupos de reptiles, ya que la actividad cerebral se hace lenta simultáneamente con una disminución en el tono muscular y frecuencia cardíaca durante el período de reposo conductual correspondiente al sueño pasivo.

Además de sueño pasivo, las tortugas Emys orbicularis (Vasilescu, 1970), Kinosternon sp. (Ayala-Guerrero, 1987) y Gopherus flavomarginatus (Ayala-Guerrero y col. 1988 a), presentan sueño activo durante el cual los patrones electrofisiológicos son similares a los exhibidos por otras especies de reptiles durante la misma fase de sueño.

Después de analizar los reportes arriba mencionados, resulta evidente que los patrones electroencefalográficos presentados durante la vigilia y el sueño por C. pectinata y los reptiles en general son diferentes a los de los mamíferos. Sin embargo, otros parámetros electrofisiológicos tales como la frecuencia cardíaca de los reptiles que hasta el momento se han estudiado, se comporta de manera similar a la de los vertebrados homeotermos, siendo máxima durante la vigilia, mucho menor durante el sueño pasivo, para hacerse arrítmica durante la fase de sueño activo. Lo mismo puede decirse de la actividad motora y ocular, ya que

también se observa un comportamiento similar al de aves y mamíferos, puesto que estas variables fisiológicas son mayores durante la vigilia en comparación con el sueño pasivo. Además se manifiestan en forma de automatismos o ráfagas durante el sueño activo.

Uno de los signos electroencefalográficos sobresalientes que se registraron en las iguanas estudiadas en este trabajo, fue la presencia de espigas de alto voltaje que aparecieron durante la fase de sueño pasivo. Este tipo de espigas ha sido también reportado en tortugas (Vasilescu, 1970; Flanigan, 1974; Flanigan y col. 1974; Ayala-Guerrero, 1987), en cocodrilos (Flanigan y col. 1973) y en otras especies de iguanas (Ayala-Guerrero, y Vargas-Reyna, 1987; Ayala-Guerrero y Huitrón-Reséndiz, 1991 b).

En primera instancia, se podría pensar en una analogía entre estas espigas y la actividad PGO que se registra en los mamíferos. Sin embargo, mientras que en los mamíferos la inyección de PCPA provoca, entre otras cosas, la aparición anormal de espigas PGO durante la vigilia (Pujol y col. 1971; Ruch-Monachon y col. 1976; Sallanon y col. 1983; Denoyer y col. 1989; Ming-Fung y Siegel, 1990), en la iguana C. pectinata no. Igualmente la reserpina facilita la aparición de ondas PGO en el gato durante la vigilia, conjuntamente con un decremento en la duración de las fases de sueño (Matzumoto y Jouvet, 1964; Delorme y col. 1965; Pare y col. 1990; Steriade y col. 1990). Mientras que bajo el mismo tratamiento farmacológico, el caiman presenta únicamente una disminución en sus estados de sueño, pero sin aumento en el número de espigas (Flanigan y col. 1973).

En base a los estudios arriba mencionados, se puede concluir

que las espigas de los reptiles no se ven afectadas de la misma forma que la actividad PGO de los mamíferos, bajo los mismos tratamientos farmacológicos, y de ahí que su analogía sea muy poco probable.

Por otro lado, Flanigan (1974), sugirió que las espigas de los reptiles pudieran corresponder a las ondas lentas que se registran durante el sueño lento de los mamíferos. Esta idea se basa en observaciones efectuadas en gatos acerca de la existencia de espigas durante el sueño pasivo a nivel del hipocampo (Peck y Vanderwolf, 1991; Vanderwolf, 1992), región que es considerada análoga al telencéfalo de los reptiles (Hartse y Rechtschaffen, 1982). Además, existen otras evidencias experimentales en las que se observan similitudes entre las ondas lentas de los mamíferos y las espigas de los reptiles, las cuales apoyan la idea de que el sueño pasivo es equivalente al sueño lento. Dichas evidencias son:

- 1) Las ondas lentas y las espigas se presentan sólo cuando los organismos exhiben un comportamiento de sueño (Flanigan, 1974).

- 2) La existencia de una disociación entre la actividad registrada en el EEG y la conducta de los organismos. Por ejemplo, el estado de somnolencia que antecede al sueño de aves y mamíferos se caracteriza por una lentificación y un incremento en la amplitud de las ondas del EEG, los cuales pueden identificarse incluso antes de que el organismo cierre los ojos (Ookawa y Gotoh, 1965; Ursin, 1968), mientras que en los reptiles, las espigas pueden aparecer cuando el organismo

permanece quieto y relajado, independientemente del cierre de sus ojos. Esta situación es muy marcada en el caiman (Flanigan, 1974), el cual exhibe una fase de somnolencia cuya duración puede durar hasta 24 horas.

3) Tanto mamíferos como reptiles exhiben variaciones en la incidencia de las ondas lentas y de las espigas. Así que, mientras en los mamíferos la mayor densidad de ondas lentas o ritmo delta, se observa durante la primera mitad del sueño nocturno, en los reptiles las espigas aparecen con más frecuencia cuando el organismo esta totalmente relajado (Flanigan, 1974).

4) En el caimán (Flanigan y col. 1973), el número de espigas aumentó, conjuntamente con una disminución en su latencia de aparición después de un período de privación de sueño. Situación que también ha sido observada para las ondas lentas de los mamíferos que han sido privados de sueño (Flanigan, 1974).

5) Bajo el efecto de la PCPA y reserpina, las ondas lentas disminuyen en los mamíferos (Matsumoto y Jouvet, 1964; Dement y col. 1972), tal y como sucede con las espigas de los reptiles que han recibido un tratamiento farmacológico similar (Flanigan, 1974). Es importante resaltar que en este estudio la PCPA también provocó una disminución en el número de espigas de la iguana C. pectinata. Además, el sulfato de atropina produce un aumento en el número de ondas lentas en los mamíferos (Bradley, 1968), lo mismo que de espigas registradas en tortugas (Hartse y Rechtschaffen, 1974).

Todas estas similitudes constituyen una serie de evidencias a favor de la existencia de una analogía entre los mecanismos que

generan las espigas en los reptiles y las ondas lentas en los mamíferos (Flanigan, 1974). Por consiguiente, probablemente las espigas registradas durante el sueño conductual en los reptiles sean un antecesor filogenético de las ondas lentas que caracterizan el sueño lento de los vertebrados homeotermos.

El sueño activo de C. pectinata y de los reptiles en general, donde se ha descrito este tipo de sueño es precedido normalmente por una fase de sueño pasivo de larga duración. Este fenómeno es semejante a lo que sucede en aves y mamíferos donde el sueño lento precede al sueño paradójico. Este hecho, es un apoyo adicional a la hipótesis de que vertebrados poiquilotermos y homeotermos comparten fases de sueño similares.

La duración de la fase de sueño activo en C. pectinata varía de 4 a 30 segundos, con un promedio de 5.97 seg. Esta duración es similar a la exhibida por otros reptiles (Vasilescu, 1970; Huntley y col. 1977; Romo y col. 1978; Ayala-Guerrero y col. 1988 a), y también a la de aves (Schlehuber y col. 1974; Vasconcelos-Dueñas y Ayala-Guerrero, 1983; Ayala-Guerrero, 1988 b), lo que puede ser un reflejo de su origen filogenético común. Sin embargo, la duración es pequeña en comparación a la de los mamíferos, a pesar de compartir el mismo origen filogenético. Todavía no hay información suficiente para explicar estas diferencias que en parte pudieran estar dadas por presiones adaptativas del medio ambiente, tales como temperatura, la cual afecta en particular a los reptiles, o posición adoptada para dormir, la cual difícilmente facilita la presencia de fases de

sueño largas en los reptiles.

Por otro lado, se han descrito cuatro posturas adoptadas por los reptiles durante su sueño conductual (Tauber y col. 1968; Flanigan, 1973). Dichas posturas coinciden con las observadas en los ejemplares de la iguana C. pectinata de este estudio, y son: postura 1, que corresponde a la vigilia activa y que se caracteriza porque el organismo además de tener sus ojos abiertos, mantiene sus extremidades flexionadas soportando el cuerpo, mientras que la cabeza y el cuello permanecen elevados. Postura 2, que corresponde a la vigilia pasiva. Esta postura es similar a la anterior, con excepción de que el cuerpo descansa en el piso. En la postura 3, de una a tres extremidades se encuentran flexionadas y pegadas al cuerpo en dirección a la cola. Durante esta postura, la cabeza de los organismos reposa en el piso y los ojos permanecen cerrados. En la posición 4, todas las extremidades se encuentran pegadas al cuerpo y en dirección a la cola, mientras que la cabeza se encuentra sobre el piso y los ojos permanecen cerrados. Estas dos últimas posturas son las que se han considerado para los reptiles como comportamiento de sueño.

En función de las manifestaciones conductuales y electrofisiológicas, excluyendo la actividad cerebral, que están a favor de la presencia del sueño en los reptiles, resulta importante resaltar que el análisis comparativo del sueño realizado solamente a través de la actividad eléctrica cerebral exhibida por los diferentes grupos de vertebrados no es adecuada, ya que por un lado dicha actividad es sólo uno de los varios signos fenomenológicos de este estado, mientras que por otro

lado, la ausencia de las ondas típicas del sueño lento y sueño paradójico de los mamíferos, implican sólo la falta de los generadores neurofisiológicos apropiados de dichas ondas, y no necesariamente la falta de sueño. En base a esto, es más adecuado tomar en cuenta otras variables fisiológicas, tales como la frecuencia cardíaca, la actividad muscular, ocular y respiratoria, las cuales exhiben tendencias similares durante los diferentes estados de vigilancia a lo largo de los vertebrados.

Es preciso mencionar que autores como Allison y col. (1972), reportaron que la aparición del sueño se dió conjuntamente con el desarrollo de la homeotermia, de tal forma que con esta hipótesis se puede dudar de la existencia del sueño en aquellos vertebrados que no pueden regular su temperatura corporal. Sin embargo, aunque si bien es cierto que existe una relación entre la temperatura ambiental y la cantidad de sueño en los vertebrados homeotermos (Aminisereshki, 1992), autores como Franken y col. (1992), y Li y Satinoff (1992), proponen que los mecanismos que regulan la temperatura corporal y el sueño son diferentes, por lo que éste último puede también desencadenarse en los vertebrados poiquilotermos, independientemente de que no puedan regular su temperatura corporal.

Antes de iniciar la discusión del efecto de la PCPA sobre el sueño de C. pectinata se debe mencionar, que además de los estudios electrofisiológicos y conductuales del sueño en los reptiles, es necesario incorporar un análisis de tipo anatómico, sobre todo de aquellas regiones encefálicas que se han relacionado con la regulación del sueño. En este contexto, se ha

descrito que en el tronco cerebral, el cual es una estructura que filogenéticamente hablando es muy antigua (Parent, 1984), existen agrupaciones de neuronas que se han relacionado en los mamíferos con la regulación del sueño lento (Cruce y Nieuwenhuys, 1974; Donkelaar, 1976). Además, estudios inmunocitoquímicos han mostrado que en éstas agrupaciones neuronales existen neurotransmisores que se han señalado como partícipes en la generación y mantenimiento del sueño tales como acetilcolina, serotonina y noradrenalina (Karmanova y col. 1978; Kamei y col. 1981; Parent, 1984).

Donkelaar (1976), y Cruce y Nieuwenhuys (1974), trabajando en diferentes especies de reptiles han descrito la formación reticular, la cual presenta semejanzas con la de los mamíferos. En los reptiles, dicha estructura encefálica ha sido subdividida en tres zonas: una media, una medial y otra lateral (Donkelaar y Nieuwenhuys, 1976). La zona media está formada por dos agrupaciones neuronales (los núcleos del rafe inferior y los núcleos del rafe superior). La zona medial contiene a los núcleos reticulares magnocelulares, mientras que los núcleos reticulares de la zona lateral han sido considerados como un primordio de la formación reticular lateral de los mamíferos (Cruce y Nieuwenhuys, 1974).

Los núcleos reticulares de la zona medial de los reptiles están formados por una serie de núcleos a los cuales se les conoce como núcleos reticulares inferiores, núcleos reticulares medios y núcleos reticulares superiores. Estas agrupaciones neuronales, tal y como lo mencionan Berman (1968) y Taber (1961),

han sido descritas en todos los trabajos del tronco cerebral realizados en el gato, en los cuales se les ha dado el nombre de núcleos tegmentales gigantocelulares o núcleos reticulares pontis caudalis, núcleos reticulares pontis centralis y núcleos reticulares pontis oralis.

Además de la identificación en los reptiles de estos núcleos reticulares, se ha identificado a otra serie de agrupaciones neuronales que en los mamíferos se han relacionado con ciertos fenómenos que acontecen durante su sueño. Entre dichos núcleos están: los núcleos del locus coeruleus, los núcleos del tracto solitario, núcleos abducenos, y cuerpo geniculado lateral (Cruce y Nieuwenhuys, 1974; Donkelaar, 1976).

Parece ser, de acuerdo a lo anteriormente mencionado, que en el tronco cerebral de reptiles y mamíferos están presentes agrupaciones neuronales, que en estos últimos se han relacionado con el sueño. Así, es probable que la atonía muscular, los movimientos oculares rápidos y las irregularidades cardiorrespiratorias registradas durante el sueño de ambos grupos de vertebrados, pudieran estar reguladas por agrupaciones neuronales y neurotransmisores que en vertebrados homeotermos han sido consideradas como claves en la generación de los fenómenos fásicos y tónicos observados a lo largo del sueño.

Además de los estudios arriba mencionados, Smeets y Steinbusch (1988), reportaron la existencia de varicosidades y terminales serotoninérgicas en el tálamo dorsal, en el cuerpo geniculado lateral y en los núcleos hipotalámicos ventromediales del reptil Gekko gecko. Estos hallazgos, aunados a la identificación de serotonina en los núcleos del rafe de la iguana

de este estudio (Ayala-Guerrero y col. 1991), dejan abierta la posibilidad a que la serotonina pudiera ser liberada a lo largo del ciclo sueño-vigilia, en las terminales serotoninérgicas a nivel del hipotálamo de los reptiles, induciendo la síntesis de factores hipnogénicos. Esta situación ya ha sido postulada para los mamíferos (Jouvet, 1984; Cespuglio y col. 1990; Houdouin y col. 1991), en los que se han propuesto dos tipos diferentes de liberación serotoninérgica. Uno ocurre a través de los axones serotoninérgicos durante la vigilia, y otro durante el sueño a nivel dendrítico, por parte de las neuronas que contienen serotonina en los núcleos dorsales del rafe. De tal forma que la liberación axonal de serotonina en la vigilia, induce la síntesis a nivel del hipotálamo de factores hipnogénicos, mientras que la liberación de serotonina a nivel dendrítico durante el sueño, pudiera ser la responsable del decremento y abolición en la actividad neuronal serotoninérgica que se observa durante el sueño lento y el sueño paradójico en los mamíferos (Fornal y col. 1985).

A pesar de las similitudes arriba mencionadas entre el sistema serotoninérgico de los reptiles y los mamíferos, no existen en la literatura bases experimentales que pudieran indicarnos si realmente en el hipotálamo de los reptiles se sintetizan como resultado de la influencia de la serotonina que a ese nivel es liberada, sustancias hipnogénicas. Sin embargo, el hecho de que el sistema serotoninérgico en mamíferos y reptiles presenten elementos comunes, nos indica que posiblemente en ambos grupos de vertebrados la serotonina pudiera desempeñar papeles

similares en la regulación del sueño.

Efecto de la PCPA sobre estados de sueño de C. pectinata.

Antes de iniciar la discusión del efecto de la PCPA sobre el sueño de la iguana C. pectinata, es importante fundamentar el por qué se administró únicamente una dosis de dicho fármaco. La explicación a esto, se basa en diferentes razones: la primera, es que debido a la falta de trabajos en los que se relacione el efecto de la PCPA sobre el sueño en los reptiles, no encontramos datos que nos pudieran servir como referencia del número de inyecciones de PCPA que en reptiles provoquen insomnio parcial o total. De tal forma que, para el desarrollo de este estudio se decidió aplicar únicamente una sola dosis de PCPA (400 mg/kg/i.p.), por ser un trabajo pionero en estos organismos, y para ver si las fases de sueño en C. pectinata se veían afectadas con este tipo de tratamiento farmacológico.

Por otro lado, la decisión de aplicar una sola dosis de PCPA en las iguanas de este estudio, tiene su base en los trabajos de Koe y Weissman (1966), en los que se indica que una sola inyección de PCPA (316 mg/kg) en ratones, disminuye en comparación con los datos controles, los niveles de serotonina casi a un 50% 12 horas después de su administración, mientras que 72 horas después el nivel de serotonina disminuye a un 7% del valor control. De tal forma que, se penso que en los reptiles de este estudio, una sola inyección de PCPA disminuiría probablemente también a la mitad los niveles de serotonina cerebral 12 horas después de su aplicación, disminución que

podría correlacionarse con la probable disminución de la cantidad de sueño de C. pectinata. Los resultados obtenidos confirmaron nuestra suposición ya que después de 12 horas de aplicada la PCPA, los niveles de serotonina en le tronco cerebral de esta iguana, disminuyeron entre un 62% y 75% en comparación con los valores controles, concomitantemente con una disminución en la cantidad de sueño.

Además, otros investigadores Pujol y col. 1971; Borbély y col. 1981; Denoyer y col. 1989; y Touret y col. 1991), observaron que la administración de una sola dosis de PCPA en ratas y gatos, provoca una disminución en la cantidad de sueño, alcanzando su efecto máximo entre las 30 y 50 horas posteriores a su inyección. Por lo tanto, existen en la literatura estudios realizados en varias especies de mamíferos en los que se reporta que una inyección de PCPA provoca alteraciones en sus fases de sueño. En base a estas tres razones, fué que se decidió aplicar únicamente una dosis de PCPA (400 mg/kg/i.p.) a las iguanas de la especie C. pectinata.

En relación al efecto de la PCPA sobre el sueño de la iguana de este estudio, se encontró que una sola dosis de dicho fármaco disminuye significativamente ($p < 0.05$), el tiempo total de sueño, después de las primeras 24 horas que siguieron a su inyección.

Resultados similares han sido descritos por Delorme y col. (1966); Pujol y col. (1971); Borbély y col. (1981); Denoyer y col. (1989) y Touret y col. (1991), los cuales indican que después de inyectar una sola dosis de PCPA, los niveles de sueño lento y sueño paradójico en gatos y ratas se vieron disminuidos

significativamente en comparación con sus registros controles. Sin embargo, a pesar de que las fases de sueño de dichos mamíferos se vieron disminuidas de manera similar a lo observado para el sueño pasivo y el sueño activo de la iguana de este estudio, existen diferencias en cuanto al tiempo que tardó dicho fármaco en provocar el efecto. Pujol y col. (1971), mostraron que después de las primeras 12 horas de haber inyectado 500 mg/kg (i.p.) de PCPA, los niveles de sueño de los gatos tratados no sufrieron ninguna modificación. Y no fué sino hasta después de este tiempo, en que los niveles de sueño empezaron a disminuir, alcanzando sus mínimos niveles 36 ó 40 horas después de la inyección del fármaco.

Denoyer y col. (1989), observaron que después de 32 ó 36 horas de aplicada una dosis de 400 mg/kg de PCPA (i.p.) en gatos, los niveles de sueño lento y sueño paradójico empezaron a disminuir, alcanzandose un insomnio máximo 90 horas después de la inyección. Por otro lado, Touret y col. (1991), indicaron que con una inyección de PCPA (400 mg/kg/i.p.) en ratas, el insomnio máximo se alcanzó después de 40 ó 45 horas de la aplicación del fármaco.

El tiempo de acción de la PCPA sobre el sueño de C. pectinata es más corto que el de los mamíferos estudiados, ya que como se menciona anteriormente, una inyección de PCPA (400 mg/kg/i.p.), provocó una disminución significativa ($p < 0.05$) en el tiempo total de sueño pasivo y sueño activo de dicho reptil, 24 horas después de su administración. Estas diferencias pudieran explicarse en función del tipo de organismos empleados en el

estudio. Ya que mientras unos son homeotermos los otros son poiquilotermos.

Otra posible explicación a la diferencia en la latencia en el efecto de la PCPA sobre las fases de sueño de los mamíferos y los reptiles, se basa en los trabajos de Bogdanski y col. (1963), en los cuales se indica que la concentración cerebral de serotonina en los mamíferos es menor a la de los reptiles, de tal forma que para dicho autor, filogenéticamente hablando la serotonina pudiera ser más importante para el desarrollo de ciertas funciones en los vertebrados poiquilotermos que en los homeotermos, precisamente debido a estas diferencias en concentración. Tomando en cuenta esta idea, probablemente en los reptiles dicho neurotransmisor tiene una mayor importancia en las funciones en las que participa, como por ejemplo el sueño. De tal forma que el efecto de la PCPA sobre este estado de vigilancia en estos organismos es más rápida que en los mamíferos.

A pesar de las diferencias arriba mencionadas, es claro que la PCPA provoca una disminución en el tiempo total de sueño tanto en reptiles como en los mamíferos.

Por otra parte, Koella y col. (1968), observaron que a bajas dosis de PCPA (150-200 mg/kg), el sueño paradójico y el sueño lento en los mamíferos disminuían paralelamente sin desaparecer completamente, mientras que Ursin (1972), observó que en los gatos a los que aplicó 200 mg/kg de PCPA, el número y longitud del sueño de ondas lentas disminuyeron, mientras que en la fase de sueño paradójico sólo la longitud se redujo. Esto último, difiere de nuestros resultados, ya que el número de fases de sueño activo de C. pectinata disminuyó y su duración promedio

aumentó.

Borbély y col. (1981), mostraron que 24 horas después de la inyección de 300 mg/kg (i.p.) de PCPA en ratas, la cantidad total de sueño lento y paradójico disminuyeron significativamente de manera similar a lo observado para C. pectinata en este estudio. Borbély y col. (1981), indicaron que la duración de los episodios de sueño lento aumento en comparación con el control, pero este aumento fue contrareestado por una disminución importante de su frecuencia. En ese mismo estudio se observó que el número de episodios de sueño paradójico disminuyó, mientras que su duración promedio no sufrió alteraciones después de la inyección de la PCPA (300 mg/kg). Si se comparan estos resultados con lo obtenido en la iguana de este estudio, se pueden apreciar similitudes en los efectos producidos por una sola dosis de PCPA sobre el sueño de ambos grupos de vertebrados. Así mismo, en los reptiles el tiempo total de sueño pasivo disminuye de manera significativa después de la inyección de la PCPA.

En relación al efecto de este fármaco sobre el sueño activo de C. pectinata, existen también similitudes a lo reportado por Borbély y su grupo (1981) para la rata, ya que en ambas especies de vertebrados, el tiempo total de sueño paradójico o activo disminuyó con la aplicación de la PCPA. Disminución que en ambos casos se puede explicar en base a la disminución en el número, pero no en la duración, de fases de este tipo de sueño.

El hecho de que las iguanas tratadas con PCPA presentaran disminución significativa con respecto al control en el número de fases de sueño activo por día de registro, podría suponer que la

serotonina facilita el disparo de esta fase de sueño, ya que después del tratamiento la concentración cerebral de serotonina disminuye entre un 62% y 75% del nivel control.

El aumento significativo observado a lo largo de las 72 horas de registro experimental, de la duración promedio de la fase de sueño activo en relación con el control, hace suponer que al menos en los reptiles la serotonina no participa en el mantenimiento de dicha fase de sueño, utilizándose para tal efecto a otro posible neurotransmisor. Más aún, posiblemente en estos organismos la 5-HT pudiera ser un neurotransmisor que interrumpe el sueño activo, ocasionando que su duración sea corta. Esta idea surge de nuestros resultados, en los cuales se observa que al disminuir la concentración de 5-HT, la duración promedio del sueño activo de Ctenosaura pectinata se vió aumentada significativamente en comparación con los registros controles. Estos hallazgos resultan ser muy interesantes, ya que en los mamíferos después de administrar la PCPA, no se ha descrito aumento alguno en la duración su sus fases de sueño MOR.

Por otro lado, el aumento en Ctenosaura pectinata de la duración promedio del Sueño activo y su baja frecuencia nos hacen pensar que en estos vertebrados existen mecanismos de compensación muy complejos que mantienen la homeostasis de dicho tipo de sueño, ya que al parecer una disminución en el número de episodios de sueño activo, se compensa con un aumento en su duración. La existencia de mecanismos homeostáticos reguladores del sueño ya ha sido postulada en los mamíferos (Borbély y col. 1983).

Un fenómeno que llama la atención es que la duración total

de sueño activo en la iguana C. pectinata sobrepasó el valor control a las 72 horas de registro experimental. Esto puede ser explicado en base al aumento significativo en la duración de los episodios de este tipo de sueño a lo largo de los tres días de registro, y a la recuperación progresiva que se fue dando en el número de fases de sueño activo.

Este fenómeno ha sido considerado por diversos autores en los mamíferos como un fenómeno de rebote (Koella y col, 1968; Borbély y col. 1981), el cual se presenta como una respuesta compensatoria a la falta parcial de sueño ocasionada por la acción de la PCPA. Los mismos autores observaron que al final del período de registro la duración promedio de las fases de sueño lento y sueño paradójico eran significativamente mayores a las duraciones promedio obtenidas para estas fases de sueño en los registros controles (situación a la que denominaron rebote), aunque el tiempo total de las fases de sueño de los organismos a los que les aplicaron dicho fármaco no aumentó en comparación con el control. Es precisamente por esto último que Jouvét (1977), y Sallanon y col. (1983), no reportan la existencia de un rebote después de la administración de PCPA. Sin embargo, tomando en cuenta las características del "rebote" de sueño que se han propuesto para los mamíferos después de inyectar la PCPA (Koella y col. 1968; Borbély y col. 1981), la iguanas de la especie C. pectinata también presentan un "rebote" compensatorio de sueño después de la administración del fármaco, ya que como se mencionó anteriormente, la duración promedio de las fases de sueño pasivo y de sueño activo, mostraron valores significativamente

superiores ($p < 0.05$) a los controles, mientras que sus frecuencias se fueron recuperando paulatinamente.

A pesar de que en el presente estudio se midió la concentración de serotonina en el tronco cerebral de C. pectinata únicamente 12 horas después de la inyección de la PCPA, es probable que la reducción de serotonina se mantenga disminuida durante varios días, tal y como sucede en los mamíferos a los que se les ha aplicado una dosis de PCPA, en cuyo caso los niveles bajos de serotonina duran entre 3 y 8 días (Koe y Weissman, 1966; Borbély y col. 1981).

Sí los niveles de serotonina en el tronco cerebral de C. pectinata se mantienen disminuidos en comparación con los niveles controles, durante varios días como en los mamíferos, la recuperación que se dió después de 24 horas, en las duraciones totales de sus fases de sueño llama poderosamente la atención, ya que esto pudiera indicar que la serotonina no participa directamente en la regulación del sueño en los reptiles, sino como una neurohormona, es decir como una substancia intermediaria que facilitará la liberación de otros mecanismos, como se ha sugerido en los mamíferos (Jouvet, 1984, 1988).

Otro hallazgo que es importante mencionar, es que en C. pectinata la PCPA actuó específicamente sobre la serotonina, ya que la concentración de las otras monoaminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina) no se modificaron significativamente. Este efecto ha sido observado en mamíferos (Koe y Weissman, 1966; Pujol y col. 1971). Además de la serotonina, se ha descrito la participación de otras monoaminas y la acetilcolina en la

regulación del sueño en los reptiles. La administración de reserpina (1 mg/kg/i.p.), en iguanas de la especie Ctenosaura similis (Ayala-Guerrero y col. 1992), y en la tortuga Geochelone carbonaria (Hartse y Rechtschaffen, 1974), indujo alteraciones en los patrones de sueño, efecto que es explicado en base a la disminución provocada por dicho fármaco en la concentración de las monoaminas cerebrales. Efectos similares han sido descritos en los mamíferos (Matsumoto y Jouvet, 1964). Por otro lado, Huitrón-Reséndiz y col. (1992), reportaron que después de la inyección de una sustancia anti-colinérgica como el sulfato de atropina, las fases de sueño de las iguanas sobre las que realizaron sus experimentos, se vieron disminuidas significativamente en comparación con el control. Dichos resultados, indican que en los reptiles también existen mecanismos colinérgicos que participan en la regulación de sus fases de sueño, tal y como ha sido propuesto para los vertebrados homeotermos (Hernández-Peón, 1962; Gnadt y Pegram, 1986; Drucker-Colín y Prospéro-García, 1988; Velazquez-Moctezuma y col. 1991; Kayama y col. 1992). En base a estos trabajos, se puede pensar que los reptiles comparten con los mamíferos neurotransmisores similares que participan en la regulación de sus fases de sueño.

Estudio inmunocitoquímico.

Desde las primeras descripciones de las neuronas serotoninérgicas que están presentes en el tronco cerebral de la rata (Dahlström y Fuxe, 1964), el estudio de la distribución de las estructuras neuronales que contienen serotonina se ha

efectuado en una gran cantidad de mamíferos, entre los que se encuentran el gato (Poitras y Parent, 1978; Wiklund y col. 1981), la rata (Steinbusch, 1981), el perro (Kojima y col. 1982), y primates (Sladek y col. 1982).

En relación a la distribución de las neuronas monoaminérgicas en el otro grupo de vertebrados homeotermos, al que pertenecen las aves, existen reportes en los que se ha sugerido que el sistema monoaminérgico de estos organismos es similar al de los mamíferos. Este hecho confirma los trabajos realizados en el pollo (Ikeda y Gotoh, 1971), y en el gallo (Dubé y Parent, 1981), en los que se describe a las principales agrupaciones neuronales que contienen monoaminas, distribuidas a lo largo del tronco cerebral de dichos vertebrados.

Por otro lado, existe poca información sobre el sistema monoaminérgico en los vertebrados poiquilotermos. Sin embargo, hay estudios que describen a este sistema en algunas especies de peces (Steinbusch y Nieuwenhuys, 1979; Parent y Northcutt, 1982; Ekström y col. 1992), anfibios (Soller, 1977), y reptiles (Parent y Poitras, 1974; Ueda y col. 1983; Wolters y col. 1985; Wilhelmus y Steinbusch, 1988; Ayala-Guerrero y col. 1991).

Además de los estudios efectuados en especies aisladas de vertebrados, Parent (1984), realizó un estudio evolutivo del sistema monoaminérgico desde peces hasta mamíferos, encontrando similitudes en la distribución de las neuronas que contienen monoaminas, principalmente a nivel del tronco cerebral, por lo que concluyó que dicho sistema era filogenéticamente muy antiguo.

En relación al estudio de la participación del sistema

monoaminérgico en los procesos de regulación del sueño en los poiquiloterms, existe muy poca información. Parent (1984), sin evidencias experimentales a este respecto, y únicamente con sus observaciones de que dicho sistema está presente en todos los grupos de vertebrados actuales, sugiere que las monoaminas pudieran intervenir en todos los vertebrados, en funciones cerebrales tales como el control del ciclo sueño-vigilia, hecho que confirman experimentalmente Ayala-Guerrero y colaboradores (1992), ya que observaron una inhibición del sueño en los reptiles después de administrar reserpina, proponiendo una influencia monoaminérgica en el sueño de estos vertebrados.

Nuestras observaciones realizadas a través del estudio inmunocitoquímico, en las iguanas que no fueron pretratadas con PCPA, revelaron que las neuronas que constituyen a los núcleos del rafe superior y rafe inferior son serotoninérgicas. La forma de las neuronas que constituyen estos núcleos es fusiforme o multipolar. La morfología de los cuerpos celulares de los núcleos del rafe identificados en C. pectinata, es similar a la que se ha descrito para el núcleo del rafe dorsal en el gato (Taber, 1961), y en la rata (Díaz-Cintra y col. 1981).

Por otro lado, observamos que las neuronas multipolares de los núcleos del rafe superior y rafe inferior de C. pectinata se encuentran asociadas por sus dendritas a los vasos sanguíneos, por lo que es muy probable que estas neuronas serotoninérgicas se vean influenciadas por hormonas u otras sustancias que son transportadas por la sangre. Esta situación ha sido postulada para los mamíferos, en los que se ha observado a las dendritas de las neuronas del núcleo del rafe del puente (Scheibel y col.

1975), del núcleo del rafe dorsal (Díaz-Cintra y col, 1981), y de los núcleos del rafe mediales (Felten y Crutcher, 1979), asociadas a los vasos sanguíneos.

Con base a estas similitudes entre las neuronas de los núcleos del rafe de los reptiles y de los núcleos del complejo del rafe de los mamíferos, fue que Parent (1984), sugirió que dichas agrupaciones neuronales presentan similitudes importantes que tal vez se mantienen a lo largo de la escala filogenética.

Por otra parte, la disminución observada en el marcaje de las neuronas del núcleo del rafe de C. pectinata, después de haber sido tratadas con PCPA, también ha sido observada en el gato (Denoyer y col. 1989; Kodama y col. 1989), y en la rata (Touret y col, 1991), en los que dicha disminución de serotonina cerebral se asocia con el insomnio provocado por la administración de PCPA.

Estudio neuroquímico.

La cuantificación de las concentraciones de las monoaminas cerebrales de los diferentes grupos de vertebrados, se ha desarrollado ampliamente en algunas especies de mamíferos, tales como el ratón (Murai y col. 1988), el perro (Mefford y col. 1982), monos (Brown y col. 1979), y el hombre (Herregodts y col. 1991); y en menor grado en algunas especies de aves (Juorio y Vogt, 1967).

Los estudios de este tipo efectuados en los demás grupos de vertebrados a los que pertenecen los reptiles, los anfibios y los peces, son muy escasos y antiguos (Bogdanski y col. 1963), y los

resultados se refieren únicamente a los contenidos cerebrales totales de monoaminas, sin referirse a regiones encefálicas específicas.

Los resultados de la neuroquímica que efectuamos en la iguana C. pectinata nos permiten mostrar, además de las concentraciones normales de serotonina, noradrenalina y dopamina que existen a lo largo de las diferentes regiones que forman el tronco cerebral de la iguana estudiada, la existencia de variaciones en las concentraciones de estas monoaminas en dichas zonas.

Por otro lado, con el estudio neuroquímico se constató lo observado con la técnica de inmunocitoquímica, en relación a la existencia de serotonina distribuida principalmente en los núcleos del rafe de C. pectinata.

Además, la disminución significativa de 5-HT observada a lo largo del tronco cerebral de este reptil después de la administración de PCPA (Cuadro 7), nos permiten corroborar que la cantidad de este neurotransmisor disminuye después de la inyección de dicho fármaco, hecho que también habíamos observado cualitativamente en la parte inmunocitoquímica. Esta situación, aunada a los resultados electrofisiológicos de las iguanas tratadas con PCPA, sugieren la intervención de la 5-HT en la regulación de las fases de sueño de C. pectinata, ya que el decremento en la cantidad de tiempo invertido por este reptil tanto en su fase de sueño pasivo como en su fase de sueño activo después de 24 horas de administrada la PCPA, concuerda con la baja en las concentraciones de serotonina cuantificadas 12 horas

después de su inyección. Efecto que ha sido reportado en los mamíferos (Touret y col. 1991; Li y Satinoff, 1992).

De los resultados obtenidos en este trabajo, se concluye que:

El estudio comparativo del sueño realizado únicamente a través de actividad eléctrica cerebral exhibida por los diferentes grupos de vertebrados no es adecuado, ya que ésta es sólo uno de los varios signos fenomenológicos de este estado de vigilancia. De tal forma que es indispensable tomar en cuenta otras variables electrofisiológicas, como la frecuencia cardíaca y respiratoria, la actividad muscular y ocular, sin olvidar los patrones conductuales que los organismos presentan durante sus fases de sueño. Por otro lado, creemos que también es importante en un estudio comparativo de sueño, integrar las observaciones electrofisiológicas y conductuales con estudios neuroanatómicos, inmunocitoquímicos, neuroquímicos, y farmacológicos, con el objeto de trazar el desarrollo filogenético de los "mecanismos" del sueño en los diferentes grupos de vertebrados.

Además, en este estudio se observó que la administración de PCPA (400 mg/kg i.p.) en la iguana Ctenosaura pectinata provoca una disminución importante en la concentración de serotonina a nivel del tronco cerebral, que coincide con una disminución en el tiempo total invertido por dicho reptil en sus fases de sueño, lo que hace suponer que la serotonina directa o indirectamente participa en la regulación del sueño en los reptiles, tal y como se ha sugerido para los mamíferos.

PERSPECTIVAS

En función de lo que se ha discutido en este trabajo, podemos darnos cuenta que el conocimiento que se tiene de los mecanismos que participan en la regulación del sueño en los vertebrados poiquiloterms es escaso en comparación con lo que se conoce en los vertebrados homeoterms. Es por esto, que existen una gran cantidad de preguntas sobre la manera como se desencadena el sueño en aquellos vertebrados que ocupan una posición inferior a la de los mamíferos en la escala filogenética, preguntas que pueden empezarse a responder con la realización de estudios como éste.

Sin embargo, aún quedan muchas dudas en relación a la influencia que pudiera tener la temperatura ambiental en la duración de las fases de sueño en los reptiles; en relación al origen que puedan tener las espigas registradas durante el sueño en los reptiles; en relación a la manera como interactúan los mecanismos serotoninérgicos, los mecanismos colinérgicos y los mecanismos noradrenérgicos en la regulación del sueño en los reptiles; en relación a la posible existencia de mecanismos peptidérgicos que participen en la generación del sueño en dichos vertebrados; en relación al tipo de agrupaciones neuronales y neurotransmisores que controlan los fenómenos fásicos y tónicos que se presentan durante el sueño en los reptiles; en relación al grado de actividad neuronal que puedan tener los núcleos del rafe, locus coeruleus, reticulares inferiores, medios y superiores, etc. en los reptiles a lo largo del ciclo luz-obscuridad, o de sus períodos de actividad-reposo; en relación a

la posible liberación de serotonina a nivel hipotalámico en los reptiles; en relación a la posible síntesis de factores hipnogénicos en el hipotálamo de los reptiles; en relación al grado de insomnio que puedan provocar sustancias como la 5,6-dihidroxitriptamina en los reptiles; en relación al efecto que pueda tener la administración de varias dosis de PCPA en el sueño de los reptiles; en relación a las características con las que se presenta el sueño en los anfibios y peces; en relación a los mecanismos que controlan los períodos de actividad y reposo en los anfibios y los reptiles; etc.

Es lógico que para poder dar una respuesta a todas estas incógnitas se requieren de años de estudio y de la constancia en una línea de investigación en la que se utilicen las técnicas electrofisiológicas, de registro de actividad unitaria, inmunocitoquímicas, neuroquímicas, farmacológicas, voltamétricas, de lesión, neuroanatómicas, etc. con el propósito de estudiar de forma integrativa la manera como se presenta el sueño en los diferentes grupos de vertebrados, tratando con ello de dar una respuesta a la pregunta que nos hacemos las personas que de alguna u otra forma estamos relacionadas con la investigación del sueño, y que consiste en saber como es que dormimos.

REFERENCIAS.

Adrien, J. Lesion of the anterior raphe nuclei in the newborn kitten and the effects on sleep. *Brain Res.* 103: 579-583, 1976.

Allison, T. y Van Twyver, H. Sleep in the moles, Scalopus aquaticus and Condylura cristata. *Exp. Neurol.* 27: 564-578, 1970.

Allison, T.; Van Twyver, H; y Goff, W. R. Electrophysiological studies of the Echidna, Tachyglossus aculeatus. I. waking and sleeping. *Arch. Ital. Biol.*, 110:145-184, 1972.

Aminisereshki, L. Cytotoxic lesions of the pontine tegmentum alert the sleep of cats in a cold environment. *Pathobiology*, 60: 113-116, 1992.

Astic, L. y Royet, J. P. Sommeil chez le ratkangourou, Potorous apicalis. Etude chez l'adulte et le jeune un mois avant la scrtie definitive du marsupium. Effects du sevrage. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 37: 483-489, 1974.

Ayala-Guerrero, F. Sleep in the tortoise Kinosternon sp. *Experientia*, 43: 296-298, 1987.

Ayala-Guerrero, F. y Vargas-Reyna, L. Sleep and wakefulness in the lizard Ctenosaura similis. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.*, 35: 25-33, 1987.

Ayala-Guerrero, F. y Vasconcelos-Dueñas, I. Sleep in the dove Zenaida asiatica. *Behav. and Neural Biology* 49: 133-138, 1988.

Ayala-Guerrero, F.; Cálderón A. y Pérez, M. C. Sleep patterns in a chelonian reptiles (Gopherus flavomarginatus). *Physiol. Behav.*, 44: 333-337, 1988 a.

Ayala-Guerrero, F.; Pérez, M. C. y Calderón, A. Sleep patterns in the bird Aratinga canicularis. *Physiol. Behav.* 43: 585-589, 1988 b.

Ayala-Guerrero, F. y Huitrón-Reséndiz, s. Sleep patterns in the lizard Ctenosaura pectinata. *Physiol. Behav.* 49:1305-1307, 1991 a.

Ayala-Guerrero, F. y Huitrón-Reséndiz, S. Behavioral and electrophysiological patterns of wakefulness-sleep states in a lizard. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.* 39 (1/4): 9-14, 1991 b.

Ayala-Guerrero, F; Huitrón-Reséndiz, S. y Mancilla, R. Characterization of the raphe nuclei of the reptile Ctenosaura pectinata. *Physiol. Behav.* 50: 717-722, 1991.

Ayala-Guerrero, F; Huitrón-Reséndiz. y Mexicano, G. Are there monoaminergic mechanisms in sleep regulation in reptiles ?. Proc. West. Pharmacol. Soc. 35: 21-24, 1992.

Berman, A. L. The brain stem of the cat. A cytoarchitectonic atlas with stereotaxis coordinates. The University of Wisconsin Press. Madison, Milwaukee, and London. p.p. 156, 1968.

Bogdanski, D. F; Bonomi, L. y Brodie, B. B. Occurrence of serotonin and catecholamines in brain and peripheral organs of various vertebrate classes. Life Sciences 1: 80-84, 1963.

Borbély, A. A.; Neuhaus, H. U. y Tobler, I. Effect of p-chlorophenylalanine and tryptophan on sleep, EEG and motor activity in the rat. Behav. Brain Res. 2: 1-22, 1981.

Borbély, A. A.; Tobler, I. y Groos, G. Sleep homeostasis and the Circadian sleep-wake rhythm. En: Sleep Disorders: Basic and Clinical Research. M. Chase y E. Weitzman (Eds). New York. p.p. 227-243, 1983.

Bradley, P. B. The effect of atropine and related drugs on the EEG and behavior. En: Anti-cholinergic drugs and brain functions in animals and man. Bradley, P. B. y Fink, M. (Eds). Amsterdam, Elsevier, Publ. Co. p.p. 3-13, 1968.

Brebbia, R. D. y Pyne, T. E. Environmental hypothermia and cerebral electrical activity of the little brown bat, Myotis lucifugus. Psychophysiology. 9: 122-123, 1972.

Brown, R. M; Crane, A. M. y Goldman, P. S. Regional distribution of monoamines in the cerebral cortex and subcortical structures of the rhesus monkey: Concentrations and in vivo synthesis rates. Brain Res. 168: 133-150, 1979.

Cespuglio, R.; Sarda, N.; Gharib, A.; Chastrette, N.; Houdouin, F.; Rampin, C. y Jouvet, M. Voltametric detection of the release of 5-hydroxyindole compounds throughout the sleep-waking cycle of the rat. Exp. Brain Res. 80: 121-128, 1990.

Chase, M. H.; Morales, F. R.; Boxer, P. A.; Fung, S. J. y Soja, P. J. Effect of stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis on the membrane potential of cat lumbar motoneurons during sleep and wakefulness. Brain Res. 386: 237-244, 1986.

Cruce, W. L. R. y Nieuwenhuys, R. The cell masses in the brain stem of the turtle Testudo hermani; a topographical and topological analysis. J. Comp. Neur. 156: 277-306, 1974.

Culebras, A. The neurology of sleep. Neurology, 42 (supl. 6): 6-8, 1992.

Dallaire, A. y Ruckebusch, Y. Rest- activity cycle and sleep patterns in captive foxes (Vulpes vulpes). *Experientia*. 30: 50-60, 1974.

Datta, S.; Curro-Dossi, R.; Pare, D.; Oakson, G. y Steriade, M. Substancia nigra reticulata neurons during sleep-waking states: relation with ponto-geniculo-occipital waves. *Brain Res.* 566 (1/2): 344-347, 1991.

Delorme, F.; Jeannerod, M. y Jouvet, M. Effets remarquables de la réserpine sur l'activité EEG phasique ponto-géniculo-occipitale. *C. R. Soc. Biol. (París)*. 159: 900-903, 1965.

Delorme, F.; Fromen, J. l y Jouvet, M. Supression du sommeil par la p-chlorométhamphétamine et la p-chlorophenylalanine. *C. R. Soc. Biol. (París)*. 160:2347-2351, 1966.

Dement, W. C.; Mitler, M. M. y Heuriksen, S. J. Sleep changes during chonic administration of parachlorophenylalanine. *Rev. Canad. Biol.* 31(suplemento): 239-246, 1972.

Denoyer, M.; Sallanon, M.; Kitahama, K.; Aubert, C. y Jouvet, M. Reversibility of parachlorophenylalanine induced insomnia by intrahypothalamic microinjection of L5-hydroxytryptophan. *Neurosc.* 28: 83-94, 1989.

Díaz-Cintra, S.; Cintra, L.; Kemper, T.; Resnick, O. y Morgane, P. J. Nucleus Raphe Dorsalis: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Res.* 207: 1-16, 1981.

Donkelaar, H. J. Descending pathways from the brain stem to the spinal cord in some reptiles. *J. Comp. Neur.* 167: 421-442, 1976.

Donkelaar, H. J. y Nieuwenhuys, R. The brain stem of reptiles. En: Biology of the reptilia. Gans, C. (Ed). Academic Press. p.p. 20, 1976.

Drucker-Colín, R. y Prospéro-García, O. Microinjection of carbachol into the pontine area is unable to modify insomnia induced by p-chlorophenylalanine (PCPA). *Brain Res.* 462: 163-166, 1988.

Dubé, L. y Parent, A. The monoamine-containing neurons in avian brain. I. A study of the brain stem of the chicken (Gallus domesticus) by means of fluorescence and acetylcholinesterase histochemistry. *J. Comp. Neurol.* 196: 695-708, 1981.

Ekström, P.; Östholm, T. y Ebbesson, S. O. E. A morphometric study of age-related changes in serotonin immunoreactive cell groups in the brain of the coho salmon, Oncorhynchus kisutch walbaum. *Experim. Neurology*, 116: 204-209, 1992.

Felten, D. l. y Crutcher, K. A. Neuronal-vascular

relationships in the raphe nuclei, locus coeruleus, and substantia nigra in primates. Amer. J. Anat. 155:467-482, 1979.

Ferrero, G. A. R. Correlación electroclínica del sueño. Jornada sobre Sueño. Buenos Aires (Argentina), p.p. 1986.

Flanigan, W. F. Sleep and wakefulness in iguana lizard, Ctenosaura pectinata and Iguana iguana, Brain. Behav. Evol., 8: 401-436, 1973.

Flanigan, W. F. Jr; Wilcox, R. H. y Rechtschaffen, A. The EEG and behavioral continuum of the crocodilian, Caiman sclerops Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 34: 521-538, 1973..

Flanigan, W. F. Jr.; Knight, C. P.; Hartse, K. M. y Rechtschaffen, A. Sleep and wakefulness in chelonian reptiles. I. The box-turtle, Terrapene carolina. Arch. Ital. Biol., 112:227-252, 1974.

Flanigan, W. F. Jr. Sleep and wakefulness in chelonian reptiles. II. The red-footed tortoise, Geochelone carbonaria. Arch. Ital. Biol. 112: 253-277, 1974.

Fornal, C.; Auerbach, S. y Jacobs, B. L. Activity of serotonin-containing neurons in nucleus raphe magnus in freely moving cats. Exp. Neurol. 88: 590-608, 1985.

Franken, P.; Tobler, I. y Borbély, A. A. Cortical temperature and EEG slow-wave activity in the rat: analysis of vigilance state related changes. Pflugers Arch. Eur. J. Physiol. 420: 500-507, 1992.

Freemon, F. R.; Mc New, J. J. y Adey, W. R. Chimpanzee sleep stages. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 31: 485-489, 1971.

Friedman-Saavedra, R. Estudio de sueño en la tortuga Gopherus berlandieri. Tesis de Biología (Licenciatura), Facultad de Ciencias, UNAM. México, p.p. 73, 1982.

Froment, J. L.; Petitjean, F.; Bertrand, N.; Cointy, C. y Jouvret, M. Effects de l'injection intracérébrale de 5-6-hydroxytryptamine sur les monoamines cérébrales et les états de sommeil du chat. Brain Res. 67: 405-417, 1974.

Gao, B.; Duncan, W. C. y Wehr, T. A. Fluoxetine decreases brain temperature and REM sleep in syrian hamsters. Psychopharmacol. 106: 321-329, 1992.

Gassel, M. M.; Marchiafava, P. L. y Pompeiano, O. Activity of the red nucleus during deep desynchronized sleep in the unrestrained cat. Arch. Ital. Biol. 103: 369-396, 1965.

Gnadt, J. W. y Pegram, G. V. Cholinergic brain stem mechanisms of REM sleep in the rat. Brain Res. 384: 29-41, 1986.

Haj-Dahmane, S.; Hamon, M. y Lanfumey, L. K⁺ channel and 5-hydroxytryptamine 1A autoreceptor interactions in the rat dorsal raphe nucleus: an in vitro electrophysiological study. *Neuroscience*, 41 (2/3): 495-505, 1991.

Harper, R. M. y Sieck, G. C. Discharge correlations between neurons in the nucleus parabrachialis medialis during sleep-waking states. *Brain Res.* 199: 343-358, 1980.

Hartse, K. M. y Rechtschaffen, A. Effect of atropine sulphate on the sleep related EEG spike activity of the tortoise Geochelone carbonaria. *Brain Behav. Evol.* 9: 81-94, 1974.

Hartse, K. M. y Rechtschaffen, A. The effect of amphetamine, nembutal, alpha-methyl-tyrosine, and parachlorophenylalanine on sleep-related spike activity of the tortoise, Geochelone carbonaria, and on the cat ventral hippocampus spike. *Brain Behav. Evol.* 21: 199-222, 1982.

Hartmann, E.; Bernstein, J. y Wilson, C. Sleep and dreaming in the elephant. *Psychophysiology.* 4: 389, 1968.

Henn, V. y Cohen, B. Coding of information about rapid eye movements in the pontine reticular formation of alert monkeys. *Brain Res.* 108: 307-325, 1976.

Herman, H.; Jouvet, M. y Kein, M. Analyse poligraphique du sommeil de la tortue Testudo marginata. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*. 258: 2175-2178, 1964.

Hernández-Peón, R. Sleep induced by localized electrical or chemical stimulation of the forebrain. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 14: 423-424, 1962.

Herregodts, P; Ebinger, G. y Michotte, Y. Distribution of monoamines in human brain: evidence for neurochemical heterogeneity in subcortical as well as in cortical areas. *Brain Res.* 542: 300-306, 1991.

Hilaire-Kafi, St. S.; Gaillard, J. M. Hypnotic action of flunitrazepam in the rat: does 5-HT mechanism play a role? *Neuropharmacol.* 27 (12): 1227-1230, 1988.

Horne, J. Introduction. En: Why we sleep. The functions of sleep in humans and other mammals. Horne James (Ed). Oxford, Oxford University Press. p.p. 1-12, 1988.

Houdouin, F; Cespuglio, R; Gharib, A; Sarda, N. y Jouvet, M. Detection of the release of 5-hydroxyindole compounds in the hypothalamus and the n. raphe dorsalis throughout the sleep-waking cycle and during stressful situations in the rat: a polygraphic and voltametric approach. *Ex. Brain Res.* 85: 153-162, 1991 a.

Houdouin, F; Cespuglio, R. y Jouvet, M. Effects induced by

the electrical stimulation of the nucleus raphe dorsalis upon hypothalamic release of 5-hydroxyindole compounds and sleep parameters in the rat. *Brain Res.* 565: 48-56, 1991 b.

Huitrón-Reséndiz, S. y Ayala-Guerrero, F. Sleep patterns in the lizard Iguana iguana. *Sleep Research.* 20 A: 225, 1991.

Huitrón-Reséndiz, S; Mexicano, G. y Ayala-Guerrero, F. Effect of atropine sulphate on sleep of the iguanid lizard Ctenosaura similis. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 35: 157-160, 1992.

Huntley, A. C.; Friedman, J. K. y Cohen, H. B. Sleep in iguanid lizards, Dipsosaurus dorsalis. *Sleep Res.* 6: 104, 1977.

Huntley, A. C. Electrophysiological and behavioral correlates of sleep in the desert iguana Dipsosaurus dorsalis hallowell. *Comp. Biochem. Physiol.* 86 A (2): 325-330, 1987.

Inoué, S.; Kimura, M.; Honda, K. y Komoda, Y. Sleep peptides: General and comparative aspects. En S. Inoué y A. Schneider-Helmert (Comp): Sleep peptides. Basic and Clinical Approaches. Japan Sci. Soc. Press/Berlin Springer Verlag. p.p. 1-26, 1988.

Ikeda, H. y Gotoh, J. Distribution of monoamine containing cell in the central nervous system of the chicken. *Jap. J. Pharmacol.* 21: 763-784, 1971.

Jacobs, B. L. y Jones, B. E. The role of central monoamine and acetylcholine systems in sleep-wakefulness states: Mediation or modulation?. En: Cholinergic-monoaminergic interactions in the brain. L. L. Butcher (Ed). Academic Press, Orlando. 271-290, 1974.

Juorio, A. V. y Vogt, M. Monoamines and their metabolites in the avian brain. *J. Physiol.* 189: 489-518, 1967.

Jouvet, M. y Michel, F. Correlations electromyographiques du sommeil chez le chat decortique et mesencephalique chronique. *C. R. Soc. Biol. (París).* 153: 422-425, 1959.

Jouvet, M. Recherches sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil. *Arch. Ital. Biol.* 100: 125-206, 1962.

Jouvet, M. y Renault, J. Insomnie persistante après lésions des noyaux du raphe chez le chat. *Cr. Soc. Biol. (París),* 160: 1461-1465, 1966.

Jouvet, M. Neurophysiology of the states of sleep. *Physiol. Rev.* 47: 117-177, 1967.

Jouvet, M. Biogenic amines and the states of sleep. *Science.* 163: 32-41, 1969.

Jouvet, M. Neuropharmacology of the sleep-waking cycle. En: Handbook of Psychopharmacology. S. D. Iversen, L. L. Iversen y S. H. Snyder (Eds). 8: 233-293, 1977.

Jouvet, M. Neuromediateurs et facteurs hypnogènes. *Rev. Neurol.* 140: 389-400, 1984.

Jouvet, M. The regulation of paradoxical sleep by the Hypotalamo-Hypophysis. *Arch. Ital. Biol.* 126: 259-274, 1988.

Juvancz, P. The effect of raphe lesion on sleep in the rat. *Brain Res.* 194: 371-376, 1980.

Kamei, I.; Shiosaka, S.; Senba, E.; Takagi, H.; Sakanaka, M.; Inagaki, S.; Takatsuki, K.; Naka, K.; Imai, H.; Itakura, T.; Komai, N. y Tohyama, M. Comparative anatomy of the distribution of catecholamines within the inferior olivari complex from teleosts to primates. *J. Comp. Neur. Zool.* 1: 125-133, 1981.

Kaneko, C. R. S.; Evinger, C. y Fuchs, A. F. Role of cat pontine burst neurons in generation of saccadic eye movements. *J. Neurophysiol.* 46: 387-408, 1981.

Karmanova, I. G.; Titkov, E. S. y Popova, D. I. Species peculiarities of the diurnal rhythm of motor activity in the fishes from the black sea. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 12: 486-488, 1976.

Karmanova, I. G.; Belich, A. I.; Vorov, I. B. y Shilling, N. V. Interaction of cholinergic and adrenergic systems during development of two forms of sleep in the frog Rana temporaria and the turtle Emys orbicularis. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 13: 506-510, 1978.

Kayama, Y; Ohta, M. y Jodo, E. Firing of "possibly" cholinergic neurons in the rat laterodorsal tegmental nucleus during sleep and wakefulness. *Brain Res.* 569: 210-220, 1992.

Knox, C. K. y King, G. W. Changes in the Brever-Hering reflex following rostral pontine lesion. *Respir. Physiol.* 28: 189-206, 1976.

Kodama, T.; Mushiake, H.; Shima, K.; Hayashi, T. y Yamamoto, M. Slow fluctuations of single unit activities of hippocampal and thalamic neurons in cats. II. Role of serotonin on the stability of neuronal activities. *Brain Res.* 487: 35-44, 1989.

Kodama, T.; Lai, Y. Y. y Siegel, J. M. Enhancement of acetylcholine release during REM sleep in the caudomedial medulla as measured by in vivo microdialysis. *Brain Res.* 580: 348-350, 1992.

Koe, B. K. y Weissman, A. p-Chlorophenylalanine: A specific depletor of brain serotonin. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 154

(3): 499-516, 1966.

Koella, W. P.; Feldstein, A. y Clicman, J. S. The effect of para-chlorophenylalanine on the sleep of cats. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 25: 481-490, 1968.

Kojima, M.; Takeuchi, Y.; Goto, M. y Sano, Y. Immunohistochemical study on the distribution of serotonin fibers in the spinal cord of the dog. *Cell Tissue Res.* 226: 477-491, 1982.

Krilowicz, B. L; Edgar, D. M. y Heller, H. C. Reticular formation activity during wakefulness and sleep in a hibernator (*Spermophilus lateralis*). *Brain Res.* 540: 266-272, 1991.

Lai, Y. Y. y Siegel, J. M. Medullary regions mediating atonia. *J. Neurosci.* 8: 4790-4796, 1988.

Lazarev, S. G. Electrophysiological analysis of wakefulness and primary sleep in the frog *Rana temporaria*. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 14: 379-384, 1978.

Li, H. y Satinoff, E. Effects of p-chlorophenylalanine on thermoregulation and sleep in rats. *Brain Res.* 569: 46-56, 1992.

Limberger, N.; Deicher, R. y Starke, K. Species differences in presynaptic serotonin autoreceptors: mainly 5-HT_{1B} but possibly in addition 5-HT_{1D} in the rat, 5-HT_{1D} in the rabbit and guinea-pig brain cortex. *Naunyn-Schmiedebergers Arch. Pharmacol.* 343: 353-364, 1991.

Lopresti, R. W. y Mc Ginty, D. J. Sleep in the phalanger (*Thichosurus vulpecula*): An Australian marsupial. *Psychophysiology.* 7: 304, 1970.

Luebke, J. J.; Greene, R. W.; Semba, K.; Kamondi, A.; McCarley, R. W. y Reiner, P. B. Serotonin hyperpolarizes cholinergic low-threshold bursts neurons in the rat laterodorsal tegmental nucleus invitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89: 743-747, 1992.

Lyamin, O. J. Sleep in Pinnipeds. *Sleep Research.* 20 A: 224, 1991.

Mancia, G. y Zanchetti, A. Cardiovascular regulation during sleep. En: *Physiology in sleep.* J. Orem y C. D. Barnes (Eds). Academic Press, New York. p.p. 1-55, 1980.

Martin, A. A; Tannenbaum, M. G. y De Mesquita, S. Sleep and respiratory patterns in the Djungarian hamster. *Physiol. and Behav.* 48: 669-673, 1990.

Matsumoto, J. y Jouvet, M. Effects de réserpine, DOPA et 5-HTP sur les deux états de sommeil. *C. R. Soc. Biol. (Paris).* 158:

2137-2140, 1964.

Marini, G.; Gritti, I. y Mancina, M. Enhancement of tonic and phasic events of rapid eye movement sleep following bilateral ibotenic acid injections into centralis lateralis thalamic nucleus of cats. *Neurosc.* 48 (4): 877-888, 1992.

McNew, J. J.; Home, R. C. y Adey, W. R. The sleep cycle and subcortical-cortical EEG relations in the unrestrained chimpanzee. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 30: 489-503, 1971.

Medanic, M. y Gillete, M. V. Serotonin regulates the phase of the rat suprachiasmatic circadian pacemaker in vitro only during the subjective day. *J. Physiol.* 450: 629-642, 1992.

Mefford, N; Foutz, A; Noyce, N; Jurik, S. M; Handen, C; Dement, W. C. y Barchas, J. D. Distribution of norepinephrine, epinephrine, dopamine, serotonin, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, homovanillic acid and 5-hydroxyindole-3-acetic acid in dog brain. *Brain Res.* 236: 339-349, 1982.

Mexicano, G; Huitrón-Reséndiz, S. y Ayala-Guerrero, F. Effect of 5-hydroxytryptophan (5-HTP) on sleep in parachlorophenylalanine (PCPA) pretreated birds. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 35: 17-20, 1992.

Mikiten, T.; Niebyl, P. y Hendley, C. EEG desynchronization during behavioural sleep associated with spike discharges from the thalamus of the cat. *Fed. Proc.* 20: 327, 1961.

Ming-Fung, W. y Siegel, J. M. Facilitation of the acoustic startle reflex by ponto-geniculo-occipital waves: effects of PCPA. *Brain Res.* 532: 237-241, 1990.

Mitler, M. M. y Dement, W. C. Cataplectic-like behavior in cats after micro-injections of carbachol in pontine reticular formation. *Brain Res.* 68: 335-343, 1974.

Morin, L. P. y Blanchard, J. Depletion of brain serotonin by 5,7-DHT modifies hamster circadian rhythm response to light. *Brain Res.* 566: 173-185, 1991 a.

Morin, L. P. y Blanchard, J. Serotonergic modulation of the hamster wheelrunning rhythm: response to lighting conditions and food deprivation. *Brain Res.* 566: 182-192, 1991 b.

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

Mraovitch, S.; Kumada, M. y Reis, D. J. Role of the nucleus parabrachialis in cardiovascular regulation in cat. *Brain Res.* 232: 57-75, 1982.

Mukhametov, L. M. Le sommeil des mammifères marins. La Recherche. 21 (217): 41-47, 1990.

Mukhametov, L. M.; Supin, A. Y. y Polyakova, I. G. Interhemispheric asymmetry of the electroencephalographic sleep patterns in dolphins. Brain Res. 134: 581-584, 1977.

Murai, S; Saito, H; Masuda, Y. y Itoh, T. Rapid determination of norepinephrine, dopamine, serotonin, their precursor amino acids, and related metabolites in discrete brain areas of mice within ten minutes by HPLC with electrochemical detection. J. Neurochem. 50: 473-479, 1988.

O'Connor, J. J. y Kruk, Z. L. Pharmacological characteristics of 5-hydroxytryptamine autoreceptors in rat brain slices incorporating the dorsal raphe or the suprachiasmatic nucleus. British J. of Pharmacol. 106 (3): 524-532, 1992.

Oleksenko, A. J. y Mukhametov, L. M. Uni and bi-hemispheric sleep deprivation in bottlenose dolphins. Sleep Research. 20 A: 225, 1991.

Ookawa, T. y Gotoh, J. Electroencephalogram of the chicken recorded from the skull under various conditions. J. Comp. Neur. 124: 1-14, 1965.

Pare, D.; Curro-Dossi, R.; Datta, S. y Steriade, M. Brainstem genesis of reserpine-induced ponto-geniculo-occipital waves: an electrophysiological and morphological investigation. Exp. Brain Res. 81 (3): 533-544, 1990.

Parent, A. y Poitras, D. The origin and distribution of catecholaminergic axon terminals in the cerebral cortex of the turtle (Chrysemys picta). Brain Res. 78:345-358, 1974.

Parent, A. Functional anatomy and evolution of monoaminergic system. Amer. Zool. 24: 783-790, 1984.

Parent, A. y Northcutt, R. G. The monoamine-containing neurons in the brain of the garfish, Lepisosteus osseus. Brain Res. Bull. 9: 189-204, 1982.

Peck, B. K. y Vanderwolf, C. H. Effects of raphe stimulation on hippocampal and neocortical activity and behaviour. Brain Res. 568: 244-252, 1991.

Petitjean, F.; Buda, C.; Janin, M.; Sallanon, M. y Jouvet, M. L'insomnie provoquée par la p. chlorophenylalanine chez le chat: Sa réversibilité par l'injection intraventriculaire d'indolamines. C. R. Acad. Sci. 291: 1063-1066, 1980.

Peyrethon, J. y Dusan-Peyrethon, D. Etude polygraphique du cycle veille-sommeil chez trois genres de reptiles. C. R. Soc. Biol. (Paris). 163: 181-186, 1969.

Piéron, H. Le problème physiologique du sommeil. Paris, Masson. p.p.520, 1913.

Pivik, R. T.; McCarley, R. W. y Hobbson, J. A. Eye movement-associated discharge in brain stem neurons during desynchronized sleep. *Brain Res.* 121: 59-76, 1977.

Pivik, R. T.; Bylsma, F. W.; Looper, P. M. Sleep-wakefulness rhythms in the rabbit. *Behav. Biol.* 45: 275-286, 1986.

Poitras, D. y Parent, A. Atlas of the distribution of monoamine-containing nerve cell bodies in the brain stem of the cat. *J. Comp. Neurol.* 179: 669-718, 1978.

Pompeiano, O. Advances in sleep research. En: Narcolepsy. C. Guilleminault, W. C. Dement y P. Passouant (Eds). Spectrum, New York. 3:411-449, 1976.

Pompeiano, O. Cholinergic activation of reticular and vestibular mechanisms controlling posture and eye movements. En: The reticular formation revisited. J. A. Hobbson y M. A. B. Brazier (Eds). Raven Press, New York. p.p. 473-512, 1980.

Prosser, R. A.; Heller, H. C. y Miller, J. D. Serotonergic phase shifts of the mammalian circadian clock: effects of tetrodotoxin and high MG 2+. *Brain Res.* 573: 336-340, 1992.

Próspero-García, O.; Ott, T. y Drucker-Colín, R. Cerebroventricular infusion of cholecystokinin (CCK-8) restores REM sleep in parachlorophenylalanine (PCPA) pretreated cats. *Neuroscience Letters.* 78: 205-210, 1987.

Prudom, A. E. y Klemm, W. R. Electromyographic correlates of sleep behavior in a mammal, the armadillo Dasypus novemcinctus. *Physiol. Behav.* 10: 275-282, 1973.

Pujol, J. F.; Buget, A.; Froment, J. L.; Jones, B. y Jouvet, M. The central metabolism of serotonin in the cat during insomnia: a neurophysiological and biochemical study after p-chlorophenylalanine or destruction of the Raphe system. *Brain Res.*, 29: 195-212, 1971.

Rasmussen, K.; Morilak, D. A. y Jacobs, B. L. 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: 324-334, 1986.

Rechtschaffen, A.; Lovell, R. A.; Freedman, D. X.; Whitehead, W. E. y Aldrich, M. The effect of parachlorophenylalanine on sleep in the rat. Some implications for the serotonin sleep hypothesis. En: Serotonin and behavior. J. Barchas y E. Usdin (Eds). Academic Press, Orlando. 401-418, 1973.

Robertson, B.; Baker, G. B. y Vanderwolf, C. H. The effects of serotonergic stimulation on hippocampal and neocortical slow waves and behavior. *Brain Res.* 555: 265-275, 1991.

Rojas-Ramírez, J. A. y Tauber, E. S. Paradoxical sleep in two species of avian predator (falconiformes). *Science*, 167: 1754-1755, 1970.

Romer, S. A. y Parson, S. T. *Anatomía Comparada*. 5a. ed. Editorial Interamericana, México. p.p. 28-76, 1982.

Romo, R.; Cepeda, C. y Velasco, M. Behavioral and electrophysiological patterns of wakefulness-sleep in the lizard (*Phrinosoma regali*). *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.* 30:13-18, 1978.

Rosenberg, R. S.; Bergmann, B. M. y Rechtschaffen, A. Variations in slow wave activity during sleep in the rat. *Physiol. Behav.* 17: 931-938, 1976.

Rosenberg, R. S.; Zepelin, H.; Rechtschaffen, A. Sleep in young and old rats. *J. Gerontology.* 34 (4): 525-532, 1979.

Ross, C. A.; Trulson, M. E. y Jacobs, B. L. Depletion of brain serotonin following intraventricular 5,7-dihydroxytryptamine fails to disrupt sleep in the rat. *Brain Res.* 114: 517-523, 1976.

Ruch-Monachon, M. A.; Jalfre, M. y Haefely, W. Drugs and PGO waves in the lateral geniculate body of the curarized cat. I. PGO waves activity induced by R 4-1284 and p-chlorophenylalanine (PCPA) as the basis for neuropharmacological studies. *Archs Int. Pharmacodyn. Théor.* 219: 251-325, 1976.

Ruckebusch, Y. Etude EEG et comportementale des alternances veille-sommeil chez l'ane. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*. 157: 840-844, 1963.

Ruckebusch, Y.; Barbey, P. y Guillemot, P. Les étates de sommeil chez cheval *Equus caballus*. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*. 194: 658-666, 1970.

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

Sakai, K. Neurons responsible for Paradoxical Sleep. *Sleep: Neurotransmitters and neuromodulators*. A. Wauquier (Ed). Raven Press. New York. p.p. 29-42, 1985 a.

Sakai, K. Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. En: Brain Mechanisms of Sleep. D. J. McGinty, R. Drucker-Colin, A. Morrison y P. L. Parmegiani (Eds). Raven Press, New York. p.p. 111-137, 1985 b.

Sakai, K.; El Mansari, M. y Jouvat, M. Inhibition by carbachol microinjections of presumptive cholinergic PGO-on neurons in freely moving cats. *Brain Res.* 527: 213-223, 1990.

Sallanon, M.; Janin, M.; Buda, C. y Jouvet, M. Serotonergic mechanisms and sleep rebound. *Brain Res.* 268: 95-104, 1983.

Schenck, C. H.; Mahowald, M. W.; Kim, S. W.; O'Connor, K. A. y Hurwitz, T. D. Prominent eye movements during NREM sleep and REM sleep behavior disorder associated with fluoxetine treatment of depression and obsessive compulsive disorder. *Sleep.* 15: 226-235, 1992.

Schlehuber, C. I.; Flanigan, D.; Laage, D. G. y Spooner, E. Paradoxical sleep in the chick (Gallus domesticus). *Behavioral Biology.* 11: 537-546, 1974.

Scheibel, M. E.; Tomiyasu, U. y Scheibel, A. B. Do raphe nuclei of the reticular formation have a neurosecretory or vascular sensor function? *Exp. Neurol.* 47: 316-329, 1975.

Semba, K. y Fibiger, H. C. Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculopontine tegmental nuclei in the rat. A retrograde and anterograde transport and immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.* 323: 387-410, 1992.

Serafetinides, E. A.; Shuley, J. T. y Brooks, R. E. Electroencephalogram of the pilot whale, Globicephala scammoni. En: Wakefulness and sleep: lateralization aspects. *Int J. Psychobiol.* 2: 129-135, 1972.

Shiromani, P. J.; Armstrong, D. M.; Bruce, G.; Hersh, L. B.; Groves, P. J. y Gillin, C. Relation of pontine choline acetyltransferase immunoreactive neurons with cells which increase discharge during REM sleep. *Brain Res. Bull.* 18: 447-455, 1987.

Shouse, M. N. y Siegel, J. M. Pontine regulation of REM sleep components in cats: integrity of the pedunculopontine tegmentum (PPT) is important for phasic events but unnecessary for atonia during REM sleep. *Brain Res.* 571: 50-63, 1992.

Siegel, J. M. y Tomaszewski, K. S. Behavioral organization of reticular formation: Studies in the unrestrained cat. I. Cells related to axial, limb, eye, and other movements. *J. Neurophysiol.* 50: 717-723, 1983.

Siegel, J. M.; Tomaszewski, K. S. y Wheeler, R. L. Behavioral organization of reticular formation in the unrestrained cat. II. Cells related to facial movements. *J. Neurophysiol.* 50: 717-723, 1983.

Sieck, G. C. y Harper, R. M. Discharge of neurons in the parabrachial pons related to the cardiac cycle: Changes during different sleep-waking states. *Brain Res.* 199: 385-399, 1980.

Silhol, S.; Glin, L. y Gottesmann, C. Study of the 5-HT₂ antagonist ratanserin on sleep-waking cycle in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 41: 241-243, 1992.

Sladek, J. R. Jr.; Garver, D. L. y Cummings J. P. Monoamine distribution in primate brain. IV. Indolamine-containing perikarya in the brain stem of Macaca arctoides. *Neuroscience.* 7: 477-493, 1982.

Smeets, W. J. y Steinbusch, H. W. M. Distribution of serotonin immunoreactivity in the forebrain and midbrain of the lizard Gekko gekko. *J. Comp. Neur.* 271: 419-434, 1988.

Soller, R. W. Monoaminergic inputs to frog motoneurons: an anatomical study using fluorescence histochemical and silver degeneration techniques. *Brain Res.* 122: 445-458, 1977.

Sommerfelt, L. y Ursin, R. Behavioral, sleep-waking and EEG power spectral effects following the two specific 5-HT uptake inhibitors zimeldine and alaproclate in cats. *Behav. Brain Res.* 45: 105-115, 1991.

Steinbusch, H. W. M. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience* 6: 557-618, 1981.

Steinbusch, H. W. M. y Nieuwenhuys, R. Serotonergic neuron systems in the brain of the lamprey Lampetra fluviatilis. *Anat. Rec.* 193: 693, 1979.

Steriade, M.; Pare, D.; Bouhassira, D.; Deschenes, M. y Oakson, G. Phasic activation of lateral geniculate and perigeniculate thalamic neurons during sleep with ponto-geniculo-occipital waves. *J. Neurosc.* 9 (7): 2215-2229, 1989.

Steriade, M.; Pare, D.; Datta, S.; Oakson, G. y Curro-Dossi, R. Different cellular types in mesopontine cholinergic nuclei related to ponto-geniculo-occipital waves. *J. Neurosc.* 10 (8): 2560-2579, 1990.

Steriade, M. Basic mechanisms of sleep generation. *Neurology.* 42 (supl. 6): 9-17, 1992.

Sullivan, C. E. Breathing in sleep. En: Physiology in sleep. J. Orem y C. D. Barnes (Eds). Academic Press, New York. p.p. 213-272, 1980.

Stutzmann, J. M.; Eon, B.; Lucas, M.; Blanchard, J. C. y Laduron, P. M. RP-62203, a 5-hydroxytryptamine (2) antagonist, enhances deep NREM sleep in rats. *Sleep.* 15: 119-124, 1992.

Susic, V. T. y Kovacevic, R. M. Sleep patterns in the owl Strix aluco. *Physiol. Behav.* 11: 313-317, 1973.

Taber, E. The cytoarchitecture of the brain stem of the cat. I. Brain stem nuclei of cat. *J. Comp. Neurol.* 116: 27-69, 1961.

Tauber, E. S.; Roffwarg, H. P. y Weitzman, E. D. Eye movements and EEG activity in the diurnal lizard. *Nature*, 212: 1612-1613, 1966.

Tauber, E. S.; Rojas-Ramírez, J.; Hernández-Peón, R. Electrophysiological and behavioral correlates of wakefulness and sleep in the lizard Ctenosaura pectinata. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 24: 424-433, 1968.

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

Tobler, I. Behavioral sleep in the Asian Elephant in captivity. *Sleep.* 15(1): 1-12, 1992.

Touret, M; Sarda, N; Gharib, A; Geffard, M. y Jouvet, M. The role of 5-hydroxytryptophan (5-HTP) in the regulation of the sleep/wake cycle in parachlorophenylalanine (p-CPA) pretreated rat: a multiple approach study. *Exp. Brain Res.* 86: 117-124, 1991.

Toutain, P. L. y Ruckebusch, Y. Arousal as a cyclic phenomenon during sleep and hibernation in the hedgehog (Erinaceus europaeus). *Experientia.* 31: 312-314, 1975.

Turner, M. El sueño normal. Aspectos electroencefalográficos. *Trastornos del Sueño. (Simposium).* Buenos Aires (Argentina), 1984.

Ueda, S.; Takeushi, Y. y Sano, Y. Immunohistochemical demonstration of serotonin neurons in the central nervous system of the turtle Clemmys japonica. *Anat. Embryol.* 108: 1-19, 1983.

Ursin, R. The two stages of slow wave sleep in the cat and their relation to REM sleep. *Brain Res.* 11: 347-356, 1968.

Ursin, R. Differential effect of para-chlorophenylalanine on the two slow waves sleep stages in the cat. *Acta Physiol. Scand.* 83: 278-285, 1972.

Vanderwolf, C. H. The electrocorticogram in relation to physiology and behavior: a new analysis. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 82: 165-175, 1992.

Vanderwolf, C. H.; Kolb, B. y Cooley, R. K. The behavior of the rat following removal of the neurocortex and hippocampal formation. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 92: 156-175, 1978.

Van Gool, W. A.; Witting, W y Mirmiran, M. Age-related changes in circadian sleep-wakefulness rhythms in male rats isolated from time cues. *Brain Res.* 413: 384-387, 1987.

Vanni-Mercier, G.; Sakai, K.; Lin, J. S. y Jouvet, M. Carbachol microinjections in the mediodorsal pontine tegmentum are unable to induce paradoxical sleep anter caudal pontine and prebulbar transections in the cat. *Neurosci-lett.* 130 (1): 41-45, 1991.

Van Twyver, H. y Allison, T. Sleep in the opossum *Didelphis marsupialis*. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 29: 181-189, 1970.

Vasconcelos-Dueñas, I. y Ayala-Guerrero, F. Filogenia del sueño en las aves. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex. (suplemento)*. 32: 83-90, 1983.

Vasilescu, E. Sleep and wakefulness in the tortoise (*Emys orbicularis*). *Rev. Roum. Biol. Zool.* 15: 177-179, 1970.

Velazquez-Moctezuma, J.; Shalauta, M.; Gillin, J. C. y Shiromani, P. J. Cholinergic antagonists and REM sleep generation. *Brain Res.* 543: 175-179, 1991.

Vertes, R. P. Brainstem mechanisms of slow-wave sleep and REM sleep. En: *Brain Mechanisms of behavior*. W. R. Klemm y Robert P. Vertes (Eds). John Wiley & Sons, Inc. New York: 535-583, 1990.

Vertes, R. P. Brain stem gigantocellular neurons: Patterns of activity during behavior and sleep in the freely moving rat. *J. Neurophysiol.* 42: 214-228, 1979.

Vertes, R. P. A lectin horseradish peroxidase study of the origin of ascending fibers in the medial forebrain bundle of the rat. The lower brainstem. *Neuroscience.* 11: 651-668, 1984.

Vorov, I. B.; Karmanova, I. G.; Titkov, E. S. y Rukoyatkina, N. The effect of arecolina of the structure of rest and active wakefulness in the brown bull-head, *Ictalurus nebulosus*. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 13: 525-528, 1977.

Warner, B. F. y Huggins, S. E. An electroencephalographic study of sleep in young caimans in colony. *Comp. Biochem. Physiol.*, 59A: 139-144, 1978.

Wiklund, L.; Leger, L. y Persson, M. Monoamine cell distribution in the cat brain stem. A fluorescence histochemical study with quantification of indolaminergic and locus coeruleus cell groups. *J. Comp. Neurol.* 203: 613-647, 1981.

Wilhelmus, J. J. A. y Steinbusch, H. W. M. Distribution of serotonin immunoreactivity in the forebrain and midbrain of the lizard *Gekko gekko*. *J. Comp. Neurol.* 271: 419-434, 1988.

Wolters, J. G.; Donkelaar, H. J.; Steinbusch, H. W. M. y Verhofstad, A. A. J. Distribution of serotonin in the brain stem and spinal cord of the lizard Varanus exanthematicus : an immunohistochemical study. *Neuroscience*. 14 (1): 169-193, 1985.

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

Zaphiropoulos, A.; Charnay, Y.; Vallet, P.; Constantinidis, J. y Bouras, C. Immunohistochemical distribution of corticotropin-like intermediate lobe peptide (CLIP) immunoreactivity in the human brain. *Brain Res.* 26: 99-111, 1991.