



UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA, ANATOMÍA Y BIOLOGÍA CELULAR

**“EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NERVIIO VAGO
Y DEL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO SOBRE LA ACTIVIDAD
ELECTROENCEFALOGRÁFICA Y LA DISTRIBUCIÓN TEMPORAL
DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA EN EL GATO”.**

TESIS DOCTORAL

PRESENTADA POR
DAVID MARTÍNEZ VARGAS

DIRECTOR
DR. EDUARDO DOMÍNGUEZ DEL TORO

SEVILLA, ESPAÑA, SEPTIEMBRE 2014.

D. Eduardo Domínguez del Toro, profesor titular de la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España.

CERTIFICA:

Que como Director de la Tesis Doctoral **“EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NERVIO VAGO Y DEL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROENCEFALOGRÁFICA Y LA DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA EN EL GATO”** realizada por el doctorando David Martínez Vargas, ha examinado el mencionado trabajo y hace constar su autorización para que sea presentada en la Universidad Pablo de Olavide y se inicien los trámites conducentes a la defensa de la misma.

Y para que así conste, expido el presente, que firmo en Sevilla, a Septiembre de 2014.

Firmado: Dr. Eduardo Domínguez del Toro.

El doctorando D. David Martínez Vargas y el director de la tesis D. Eduardo Domínguez del Toro garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección del director de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Sevilla, Septiembre de 2014

Director de la Tesis

Doctorando

Fdo.:

Fdo.:

DEDICATORIA

A mi familia.

A la comunidad del laboratorio.

A los amigos de la FES y del "CLUB"

Al Dr. Eduardo Domínguez del Toro

Al Dr. José María Delgado-García

Gracias por todo.

Este trabajo ha fue desarrollado en el laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación del Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz. México. D.F.

Trabajo apoyado parcialmente por el Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz **INPRF NC09-3240.2**.

ABREVIACIONES

Actividad ponto-geniculo occipital (PGO).
Amígdala del lóbulo temporal (AMG)
Acetilcolina (Ach)
Área preóptica del hipotálamo (APO)
Colecistoquinina octapéptido (CCK-8)
Campo magnocelular del tegmento pontino (CTM)
Campo Tegmental Gigantocelular (CTG)
Catecolaminas (CA)
Complejo dorsal del vago (CDV)
Corteza pre-frontal izquierda (Cx Pf-I)
Corteza pre-frontal derecha (Cx Pf-D)
Cuerpo geniculado lateral (CGL)
Electroencefalograma (EEG)
Electromiograma (EMG)
Electrooculograma (EOG)
Estimulación eléctrica del nervio vago (ENV)
Estimulación eléctrica del núcleo del tracto solitario (ENTS)
Hormona adrenocorticotrópica (ACTH)
Líquido cefalorraquídeo (LCR)
Locus coeruleus (LC)
Locus coeruleus-alfa (LC- α)
Movimientos oculares rápidos de los ojos (MORs)
Neurotensina (NT)
Neuropéptido Y (NPY)
Noradrenalina (NA)
Núcleo ambiguo (NAMB)
Núcleo central de la amígdala (AMGc)
Núcleo del tracto solitario (NTS)
Núcleo dorsal del rafe (NDR)

Núcleo motor dorsal del vago (NMDV)
Núcleo parabraquial (nPBL)
Núcleo Paragigantocelular (PGi)
Núcleo reticular del tálamo (NRT)
Núcleo reticular caudal del puente (RCP)
Núcleo reticular oral del puente (RPO)
Paraclorofenilalanina (PCPA)
Peri-locus coeruleus-alfa (Peri-LC- α)
Péptido parecido a la corticotropina (CLIP)
Polipéptido vasoactivo intestinal (VIP)
Región peribraquial (rPBL)
Resonancia magnética espectroscópica (RMS)
Resonancia magnética funcional (fRMF)
Somatostatina (SOM)
Sueño de movimientos oculares rápidos (MOR)
Sueño fásico en ondas lentas (SFOL)
Sueño de ondas lentas (NMOR)
Sueño de ondas lentas (SOL)
Sueño de ondas lentas I (SOL I)
Sueño de ondas lentas II (SOL II)
Serotonina (5-HT)
Sistema reticular activador ascendente (SRAS)
Sustancia negra parte compacta (SNc)
Tegmento pedúnculo pontino (TPP)
Tegmento laterodorsal (TLD)
Tomografía por emisión de fotón simple computarizada (SPECT)
Tomografía por emisión de positrones (PET)

ÍNDICE

RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1-4
ANTECEDENTES	
1. EL ESTUDIO CIENTÍFICO DEL SUEÑO	5-7
2. ASPECTOS CONDUCTUALES Y POLIGRÁFICOS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA DEL HOMBRE Y DEL GATO	8-22
2.1. EL CICLO SUEÑO-VIGILIA DEL HOMBRE.	
2.2. EL CICLO SUEÑO-VIGILIA DEL GATO	
3. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL SUEÑO	23-38
3.1. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE LA VIGILIA	
3.2. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL SOL	
3.3. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL MOR	
3.4. MODELOS SOBRE EL SUEÑO	
3.4.1. LOS PROCESOS HOMEOSTÁTICO, CIRCÁDICO Y ULTRADIANO DEL SUEÑO	
3.4.2. INTEGRACIÓN DE LOS SISTEMAS NEUROQUÍMICOS EN MODELOS "FLIP-FLOP" PARA LA REGULACIÓN DEL SOL Y EL MOR	
3.4.3. MODELO DE LA INTERACCIÓN RECÍPROCA	
4. EL NERVI VAGO	39-48
4.1. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA	
4.2. EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE AFERENTES VAGALES	
4.3. ESTIMULACIÓN VAGAL, EEG Y SUEÑO	
5. EL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO	49-56
5.1. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA	
5.2. NEUROQUÍMICA DEL NTS	
5.3. EFECTO DE LA ENTS SOBRE EL EEG Y EL SUEÑO	
6. OBJETIVOS	57-58
6.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
6.2. HIPÓTESIS	
6.3. OBJETIVOS	
7. MATERIAL Y MÉTODOS	59-65
7.1. EXPERIMENTOS AGUDOS	
7.4.2. EXPERIMENTOS CRÓNICOS	
7.4.3. VERIFICACIÓN HISTÓLOGICA	
8. RESULTADOS	66-87
8.1. EXPERIMENTOS AGUDOS	
8.2. EXPERIMENTOS CRÓNICOS	
9. DISCUSIÓN	88-96
10. CONCLUSIONES	97
BIBLIOGRAFÍA	98-118

RESUMEN

El núcleo del tracto solitario (NTS), es una estructura cerebral localizada en la porción caudal del bulbo raquídeo y es el sitio de terminación y proyección de fibras aferentes viscerales y cardiovasculares de los nervios glosofaríngeo y vago hacia el sistema nervioso central. Participa en la integración de diversas funciones viscerales y autónomas como la ingesta, el gusto y las relacionadas con los reflejos respiratorios y cardiovasculares. Por otra parte, es capaz de inhibir las crisis inducidas experimentalmente, cuando es estimulado química o eléctricamente y es considerado por algunos autores como una estructura implicada en los mecanismos fisiológicos de instalación del sueño. La amplia distribución anatómica del nervio vago (NV), a través del NTS es capaz de modular la actividad neuronal de estructuras corticales y subcorticales implicadas en la instalación y mantenimiento de las diferentes fases del ciclo sueño-vigilia. Por lo tanto, el presente trabajo consistió en determinar los efectos que provoca la estimulación eléctrica del nervio vago (ENV) y la estimulación eléctrica del núcleo del tracto solitario (ENTS) sobre la actividad multiunitaria del eje anatómico Vago-Solitario-Parabraquial-Amígdalino en gatos anestesiados y por otra parte, describir el efecto de la ENTS sobre la micro y macro arquitectura del ciclo sueño-vigilia en gatos con libertad de movimiento.

Se realizaron dos experimentos, en el primero bajo condiciones agudas de experimentación, se examinaron los efectos de la ENV y ENTS sobre la actividad multiunitaria del núcleo parabraquial (nPBL) y del núcleo central de la amígdala del lóbulo temporal (AMGc) en gatos anestesiados. El segundo experimento, fue realizado en animales en preparación crónica, donde se analizaron y describen los efectos de la ENTS, sobre la dinámica de la actividad electroencefalográfica (EEG) de la corteza pre-frontal y de la AMG, a través de un análisis espectral, así como los cambios que produce la estimulación sobre la distribución temporal de las fases del ciclo sueño-vigilia durante 23 horas de registro en gatos con libertad de movimiento.

Los resultados obtenidos en los experimentos agudos muestran que la ENV y la ENTS provocan un aumento en la tasa de disparo de la actividad multiunitaria y potenciales de campo de 1Hz en el nPBL y el AMGc de larga duración, que es dependiente de la intensidad de la estimulación empleada. En cuanto a los experimentos crónicos, se demuestra que la ENTS provoca respuestas conductuales de tipo vegetativo; además de un aumento en la potencia de la actividad EEG cortical de las bandas de frecuencia alfa, teta, beta y de los husos de sueño; así como un aumento de la fase de movimientos oculares rápidos (MOR) en registros de 23 horas. Los efectos observados pueden atribuirse a las conexiones eferentes del NTS hacia el nPBL, el locus coeruleus (LC) y el núcleo dorsal del rafe (NDR) que participan activamente en la modulación del sistema tálamo-cortical que se encargan de producir la actividad intrínseca del EEG cortical y dan lugar a los diferentes estados de vigilancia o ciclo sueño-vigilia.

INTRODUCCIÓN

El hombre representa el último paso conocido en el proceso evolutivo de las especies, que inició hace varios millones de años y que dio lugar a la aparición de nuestra especie hace unos cincuenta mil años. A pesar de la evolución, conservamos la necesidad de dormir. Pasamos aproximadamente una tercera parte de nuestra vida soñando; en este periodo entramos en un estado alterado de conciencia que dura algunas horas y donde se presentan también las *ensoñaciones* (imágenes oníricas), fenómeno de carácter misterioso donde nos sumergimos de repente y sin previo aviso en una trama en la que somos actores y espectadores a la vez, de gran intensidad emocional con un contenido y una organización ilógica, donde no se aplican las unidades de tiempo, lugar y persona, que sobrepasan las leyes naturales.

Desde la más remota antigüedad el hombre se ha asombrado ante ese extraño mundo. Se han dado las más dispares explicaciones: el alma pasa a otro plano de existencia cuando dormimos, la mente consciente muere de noche y vuelve a nacer al despertar, se libera el inconsciente, etc.

El carácter necesario de este proceso se pone en evidencia por la naturaleza disruptiva que tiene la privación del sueño. El no dormir prolongado da lugar a una somnolencia invencible, aumentan las ilusiones y se presentan alucinaciones fugaces, hay nerviosismo e irritabilidad. También ataxia, monotonía en el lenguaje y diplopía (Fernández-Guardiola, 1994). En insomnios experimentales prolongados (por más de 250 horas), pueden aparecer periodos de desorientación espacio temporal, ideas paranoides y pérdidas ocasionales del control emocional. En modelos animales de privación de sueño hasta llegar a la muerte se presenta la existencia de un síndrome característico que incluye debilitamiento general, lesiones en la piel, aumento en la ingestión de alimento acompañado de una disminución del peso corporal, aumento del gasto energético y descenso de la temperatura corporal (Rechtschaffen y Kales, 1989). Las alteraciones provocadas por la falta de sueño, cuando ésta no ha sido excesivamente prolongada como en los modelos animales, son reversibles después de unas horas de sueño proporcionales a la extensión de la privación (Borbély, et al., 1981).

Hoy en día, sabemos que el dormir forma parte de un ritmo biológico, del llamado ciclo sueño-vigilia. Éste es un ritmo circadiano, lo que quiere decir que su ciclo completo (duración de su periodo de oscilación) dura aproximadamente 24 horas. Otros ritmos biológicos tienen periodos mucho más cortos como son los ultradianos que son menores a 20 horas, o más largos que un día como es el caso de los ritmos infradianos (mayores a 28 horas). Dichos ritmos biológicos son, por lo general, endógenos; es decir, están determinados genéticamente en los individuos de cada especie, y en condiciones naturales, están sincronizados por los ciclos geofísicos, ya sea la luz, la oscuridad, las mareas, los campos magnéticos terrestres, etc. (Aguilar, 1993; Fernández-Guardiola, 1994, 1998).

La mayoría de las ocasiones en las que se busca una definición científica del sueño, se suele encontrar una descripción de las variaciones en la actividad eléctrica cerebral, el llamado electroencefalograma (EEG), que tienen lugar durante dicha transición y aquí no será la excepción. A pesar de ello debemos considerar además, los cambios de comportamiento que acompañan a estas variaciones características al quedarse dormido, también llamado sueño conductual, como son: quiescencia de comportamiento, adopción de una postura estereotípica propia de la especie, un umbral elevado de excitación y un rápido cambio de estado después de estimulación intensa.

Desde esta perspectiva el sueño es uno de los procesos biológicos más universales, se presenta desde la mosca *Drosophila melanogaster* y el gusano *Caenorhabditis elegans*, hasta los seres más evolucionados incluido el hombre. Sin embargo, su existencia en los invertebrados no se ha establecido de manera definitiva.

Desde el punto de vista de su distribución temporal durante las 24 horas, el ciclo sueño-vigilia se presenta con un carácter infradiano en las aves, los reptiles y mamíferos inferiores y con un carácter circadiano en los mamíferos superiores y en el hombre a partir de los seis a ocho meses de edad (Kleitman, 1963; Hassenberg, 1965).

Por otra parte, es indudable que el sueño tiene algunas funciones fundamentales, estas aún no son del todo claras. De hecho, la función del sueño ha sido un tema de arduo debate durante los últimos 40 años; se ha asociado con funciones como conservación de energía, función inmune, metabolismo cerebral, implicaciones ecológicas (como el riesgo de

depredación), mantenimiento de redes neuronales y para facilitar el aprendizaje y la memoria a través de cambios en la plasticidad cerebral y en la generación de sinapsis neuronales (Datta, 2010; Datta y Maclean, 2007). Teniendo en cuenta los múltiples beneficios que el sueño puede proporcionar, sería inconcebible tratar de establecer que el sueño tiene solamente una función. Lo que es indudable es que cuando un individuo cae dormido asume los costos potenciales del sueño para cubrir una necesidad primaria pero también al mismo tiempo se beneficia de todas las funciones secundarias relacionadas con dicho proceso (Franco Pérez, 2011, 2012).

También se debe señalar que aún no se ha determinado de manera precisa cuales son los mecanismos fisiológicos que subyacen al sueño y la vigilia. Por lo tanto, a lo largo de la historia, se han realizado una gran cantidad de trabajos experimentales, encaminados a determinar las estructuras cerebrales y los sistemas de neurotransmisión involucrados que los regulan. Hoy en día se ha avanzado mucho en este sentido, e incluso se conocen varias moléculas como péptidos, citocinas y algunas de naturaleza lipídica que modifican el sueño y han sido denominados factores inductores de sueño. Así pues, el sueño parece ser un estado global altamente regulado ya que se ha propuesto que presenta diferentes niveles de control desde los genes y procesos sinápticos hasta redes neuronales centrales (Datta, 2010; Datta y Maclean, 2007).

Una de las estructuras implicadas en los mecanismos del sueño es el NTS, que se localiza en porción caudal del bulbo raquídeo, donde recibe información aferente del quinto (trigémico), séptimo (facial), noveno (glosofaríngeo) y décimo (vago) par craneal. Dicha núcleo, ha sido relacionado principalmente con los mecanismos de generación del sueño de ondas lentas (SOL), sin embargo, se desconocen los efectos que provoca la ENTTS sobre la macroarquitectura de la distribución temporal del ciclo sueño-vigilia y sobre la actividad EEG cortical y subcortical en animales con libertad de movimiento o en preparaciones agudas de experimentación.

Se ha descrito que la ENTTS, así como la ENV son capaces de modificar la actividad cerebral de amplias regiones del cerebro, y por lo tanto ejercer profundos efectos sobre su funcionamiento, ya que es capaz de modificar la

actividad EEG cortical, producir efectos inductores de sueño, así como un importante efecto antiepiléptico y/o antidepresivo en hombres y animales.

Por el hecho de que NTS recibe la mayor parte de información aferente del NV, es muy probablemente que el NTS sea la vía por la cual la ENV es capaz de modificar la dinámica de la actividad eléctrica neuronal del cerebro.

También es necesario puntualizar que aun cuando la fisiología del sueño ha sido estudiada con afán, aun se desconocen muchos de los procesos fisiológicos entre el sistema nervioso central y la actividad del sistema nervioso autónomo durante la progresión del sueño, hecho que es muchas veces realizado a través de las proyecciones eferentes del NTS.

Por lo anterior, el propósito del presente trabajo fue analizar los efectos que produce la ENV y ENTS sobre la actividad neuronal de estructuras pontinas y limbicas a corto y largo plazo en gatos anestesiados; y por otra parte, determinar los cambios que provoca sobre la micro y macroarquitectura del ciclo sueño-vigilia en 23 horas de registro en gatos con libertad de movimiento.

ANTECEDENTES

1. EL ESTUDIO CIENTÍFICO DEL SUEÑO

Los primeros estudios acerca del sueño fueron realizados a partir de observaciones conductuales, de cambios posturales en pacientes y sujetos sanos y mediante la introspección de las ensoñaciones. Más tarde, los estudios sobre el sueño se basaron en el análisis de los cambios a nivel vegetativo, tales como: diámetro pupilar, presión arterial, frecuencia cardíaca y temperatura corporal.

En 1870, los médicos prusianos Hitzig y Fritsch observaron que, al estimular mediante corriente galvánica determinadas áreas del cerebro descubiertas, se producían movimientos en el lado opuesto del cuerpo. Cinco años después, Richard Caton (1875) descubrió señales eléctricas procedentes directamente de la superficie de cerebros expuestos de animales, ésta fue una de las primeras descripciones sobre la existencia de una actividad eléctrica del cerebro, que aunadas a las observaciones de Luigi Galvani (1770), Luigi Giovanni Aldini (1794), Frederick Von Humboldt (1797), Carlos Matetteucci (1830), Davis Ferrier (1897) y el ruso Danileski (1891) dieron por sentado que el cerebro poseía actividad eléctrica.

No fue hasta 1929 cuando Hans Berger anunció al mundo que era posible registrar la actividad eléctrica cerebral de manera no invasiva en el hombre. Berger llamó a esta nueva forma de registro EEG y estableció las bases de una de las más importantes técnicas para el estudio funcional del cerebro.

Con el descubrimiento del EEG, al hacer posible el registro percutáneo, no invasivo de la actividad eléctrica cerebral, se iniciaron numerosas investigaciones dirigidas al análisis de los diferentes ritmos electrográficos durante los diferentes estados de conciencia, entre ellas, la del dormir a partir del cual se adelantó como nunca en el conocimiento del sueño.

La primera observación importante fue que el sueño es un proceso múltiple, con diversas etapas, distintas en cuanto a la actividad eléctrica del cerebro, con cambios de frecuencia y voltaje, a partir de las cuales el sueño se clasificó en diferentes fases, según la porción de ritmos EEG lentos que se presentan (Loomis et al., 1937; Passouant, 1950; Dement y Kleitman, 1957a).

Klaue en 1937 dio por primera vez una descripción detallada de periodos de actividad EEG rápida, semejante a la de la vigilia, que aparecen intercalados entre las fases más profundas del sueño. Posteriormente, Aserinsky y Kleitman (1953), en un trabajo crucial, observando clínicamente el sueño de recién nacidos, describieron que periódicamente los bebés movían los ojos con rapidez, sin abrirlos. Cuando hicieron registros EEG pudieron constatar que estos periodos se acompañaban de aceleración de los ritmos, semejante a la que se encuentra al inicio del sueño o en la vigilia. Al extender sus experiencias al adulto, pudieron comprobar el carácter cíclico de estos periodos, que aparecen 4 ó 5 veces durante la noche, emergiendo de las fases del SOL¹. No conformes con esto, descubrieron que si se despierta a un individuo en esta fase de movimientos oculares rápidos de los ojos (MORs), éste suele reportar que estaba soñando.

A este estado fisiológico particular del sueño, se le ha bautizado de diferentes maneras: Rapid Eye Movement (REM), fase de movimientos oculares, sueño romboencefálico, sueño rápido, dreaming state, sueño paradójico, sueño de movimientos oculares rápidos (MOR), entre otras; pero siempre haciendo referencia al mismo proceso. En el presente trabajo se ha decidido emplear el término MOR, por lo que en lo sucesivo será utilizado.

Después de que Aserinsky y Kleitman descubrieron el sueño MOR humano -y de que reconocieron de inmediato los MORs como la base fisiológica de la actividad onírica-, William Dement (1958), demostró que en los gatos tiene lugar una fase idéntica del sueño. Al mismo tiempo en Lyon Francia, Michel Jouvet y Francois Michel (1959), demostrarían que el sueño MOR se acompaña de una atonía muscular. Posteriormente Jouvet (1962) descubrió que esa atonía era causada por una inhibición activa procedente del tronco del encéfalo pontino que con el paso del tiempo se identificaría como el centro cerebral del MOR.

Desde entonces, se han hecho muchos progresos científicos que han permitido esclarecer algunos puntos sobre el sueño, pero no todo (ni mucho

¹ El SOL fue eclipsado inicialmente por el sueño MOR durante algún tiempo. En respuesta a esto, surgió una escuela de científicos en los Estados Unidos, dirigida por Wilse B. Webb, que se autodenominó "*Sociedad para la prevención de la crueldad hacia el sueño No MOR*".

menos) está explicado hoy en día, lo que sí es un hecho aceptable es que numerosas estructuras cerebrales durante el transcurso del sueño y la vigilia, modifican su actividad rítmica o patrón de disparo neuronal.

Sistemas como el colinérgico, dopaminérgico, noradrenérgico e histaminérgico se encuentran activos durante la vigilia, mientras que en el SOL, se requiere la liberación del neurotransmisor inhibitor por excelencia el GABA (ácido gamma-aminobutírico); en cuanto a la fase de sueño más profunda; el sueño MOR es llevada a cabo por numerosas moléculas, entre ellas la acetilcolina (Ach) (McGinty y Szymusiak, 2003; Harris, 2005, Murillo-Rodríguez, 2008).

2. ASPECTOS CONDUCTUALES Y POLIGRÁFICOS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA DEL HOMBRE Y DEL GATO

Desde los trabajos de Berger (1929), se han descrito cambios electroencefalograficos concomitantes con los diferentes estados del sueño y la vigilia (Dement y Kleitman, 1957a; Rechtschaffen y Kales, 1968), lo que ha permitido llegar a establecer una clasificación internacional, a partir del porcentaje de actividad lenta que presenta el EEG durante el sueño, partiendo del estado de vigilia en el hombre.

El descubrimiento del sueño MOR permitió completar la clasificación de los estados del sueño, hecho que se había intentado varias veces, bajo varios criterios, algunos de ellos controvertidos. Hasta 1968, el comité internacional encabezado por Rechtschaffen y Kales, logró establecer un criterio común. Esta clasificación fue hecha a partir de la relación temporal que guardan los cambios del EEG, del electrooculograma (EOG) y del electromiograma (EMG) durante el dormir, la cual perduro hasta principios del siglo XXI.

A partir de 2007, un consenso de expertos de la Academia Americana de Medicina del Sueño, propuso una nueva clasificación para los diferentes estadios del sueño, que desde entonces prevalece. En dicha clasificación la vigilia se considera 0; el sueño noMOR (NREM en ingles) se subdivide en tres fases N1, N2 y N3 (previamente consideradas como fases III y IV o sueño delta) y por último el sueño MOR o REM (Silber, et al, 2007). A continuación se describen las características poligráficas de cada fase según la clasificación de dicho comité.

2.1. EL CICLO SUEÑO-VIGILIA DEL HOMBRE.

2.1.1. VIGILIA

El EEG de un sujeto relajado, con los ojos cerrados, pero que aún se encuentra en estado de vigilia, muestra la presencia de ritmo alfa (8-13 Hz) en las regiones parieto-occipitales, que pueden alternan con ritmos beta (14-26 Hz). El EOG puede o no mostrar movimientos oculares y la actividad del EMG muestra la presencia de tono muscular con variaciones de alto voltaje.

2.1.2. SUEÑO DE ONDAS LENTAS (NMOR)²

Representa cerca del 75% del sueño y se caracteriza por un cambio en el EEG de una baja amplitud y una actividad de alto voltaje y baja frecuencia. El grado en que el EEG se sincroniza o lentifica cada vez más, se puede subdividir en cuatro etapas:

A) PRIMERA ETAPA (N1). Es la primera de las 4 fases del sueño lento. Se trata de un estadio de somnolencia. Cuando inicia el sueño, el ritmo alfa desaparece y aparecen actividades esporádicas de 5 a 7 Hz (banda teta) de bajo voltaje, en un fondo de actividad beta. Los movimientos oculares desaparecen y el tono muscular disminuye discretamente haciéndose regular, es la fase más superficial y de despertar más fácil.

B) SEGUNDA ETAPA (N2). Después de unos minutos de iniciado el sueño, aparecen actividades fusiformes (12-14 Hz) denominados husos de sueño que alternan con actividad beta. Aparecen también potenciales agudos de alto voltaje en la región del vértex, denominados complejos "K" o puntas del vértex. Comienza a alternar brotes de actividad delta (0.5 a 4 Hz) de alto voltaje, que ocupa hasta un 20% de una "época" (una hoja del papel para registro EEG, que corre a velocidad de 10 o 15 mm/seg) del registro poligráfico. Concomitantemente el tono muscular disminuye. Su duración es de 10 a 25 minutos y es la fase mayoritaria (50%).

C) FASES N3 y N4. Como se ha mencionado, actualmente las fases 3 y 4 se consideran como una sola, denominada N3, que representa del 15 al 25% del tiempo total de sueño; en el EEG vemos ondas lentas (< 3 Hz) de gran amplitud; el EMG presenta cierta actividad tónica (pero muy baja) y el EOG no muestra movimientos.

La fase 3 se caracteriza por la presencia del ritmo delta entre el 20 y el 50% de una época, que alterna con frecuencias rápidas, pueden aparecer también husos de sueño y la relajación muscular aumenta.

La fase 4, tiene una duración de 20 a 40 minutos, se caracteriza por actividad delta que se torna constante (más del 70 %) y se acompaña de una actividad muscular muy disminuida y de movimientos oculares lentos. Es la fase de sueño más reparadora.

² La abreviación hace referencia sólo a las fases del sueño de ondas lentas en el humano, para las fases de sueño de ondas lentas en el gato se empleara la abreviación SOL.

2.1.3. SUEÑO MOR. Supone cerca del 25% del sueño total, aunque varía mucho en función de la edad (en neonatos llega a ser el 50%). Aparece a los 90 minutos de iniciarse el sueño, aumentando su duración con el paso de los ciclos (al final alcanza los 30 minutos).

El primer episodio de MOR que dura entre 20 a 40 minutos en las horas de la madrugada, y se caracteriza por una actividad EEG rápida de bajo voltaje (beta), semejante a la observada en la fase I del SOL o durante el estado de alerta. El EOG muestra la aparición de MORs, aislados, o bien, organizados en salvas hasta de 50 movimientos. Hay atonía muscular, en ocasiones interrumpida por breves contracciones que pueden coincidir con los movimientos oculares.

Durante el dormir se presentan movimientos corporales al cambiar de posición. A estos se les ha denominado Fase de Movimientos. Si estos movimientos provocan la aparición de una fase de vigilia, entonces reciben el nombre de Movimientos que Inducen el Despertar.

2.1.4. CARACTERÍSTICAS DEL CICLO NMOR-MOR. Los ciclos NMOR-MOR se repiten 4 ó 5 veces cada noche (duración media de 90-120 minutos); según avanza la noche la proporción de sueño lento disminuye y aumenta la de sueño MOR; durante el sueño hay breves momentos de vigilia, próximos a las fases MOR, de los que la persona no suele acordarse.

La transición desde el estado de vigilia al sueño está asociada a numerosos cambios fisiológicos tanto en el sistema somático como en el autónomo. Este último se caracteriza por un aumento de la actividad parasimpática durante el sueño NMOR y de la actividad simpática (de forma intermitente) en la fase MOR. Esto se va traducir en cambios cardiorrespiratorios, bradicardias, arritmias, modificación de la presión arterial en las diferentes etapas del sueño.

Solo existe sueño MOR en los mamíferos, excepto en el oso hormiguero y el delfín nariz de botella. Parecer ser que el sueño paradójico se produce, filogenéticamente, cuando la corteza cerebral está más desarrollada y hay quien supone que sucede sólo con animales homeotermos -capacidad de mantener la temperatura corporal dentro de unos límites, independientemente de la temperatura ambiental-.

El metabolismo cerebral y en consecuencia la temperatura cerebral disminuye con la profundidad del sueño NMOR. Sin embargo, en el sueño MOR pueden incrementar estas cifras con respecto al estado de vigilia, ya que hay una activación de la corteza cerebral.

En la investigación del sueño en animales, también se han logrado establecer las diferentes fases del ciclo sueño-vigilia en numerosas especies, entre ellas las del gato, que se describen a continuación, ya que fue la especie utilizada en el presente estudio.

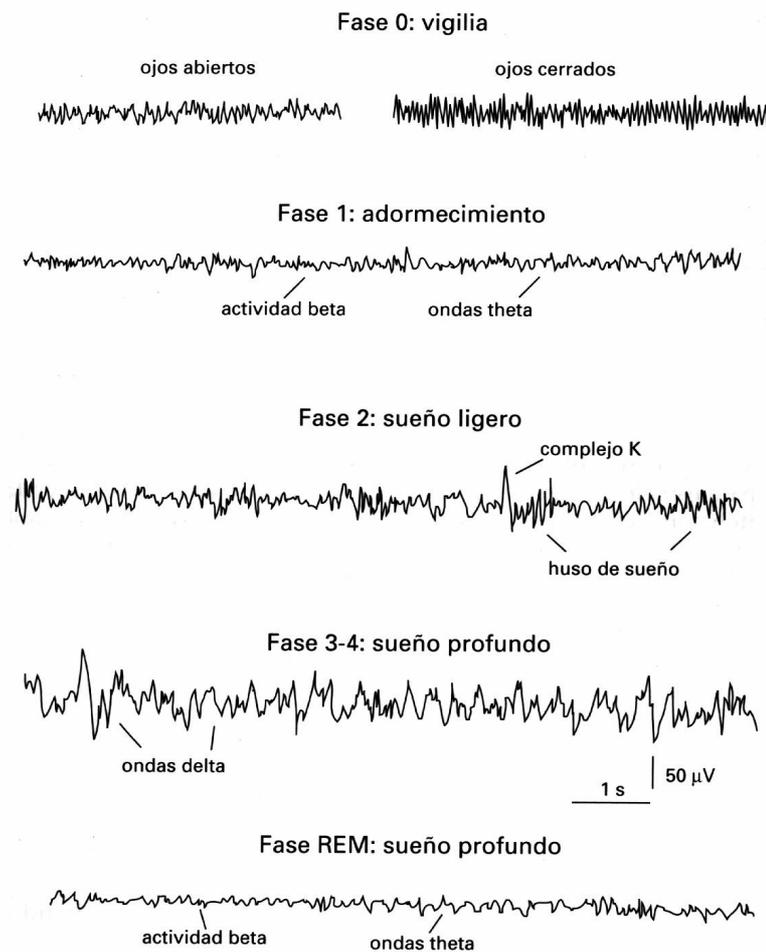


Figura 2.1. Patrones electroencefalográficos en las distintas fases del sueño humano. Nótese que el patrón de EEG desincronizado (o activado) de la fase 1 y de la REM son prácticamente indistinguibles. Aunque en el REM hay un patrón de EEG activado este sueño es tan profundo como el de la fase 3-4, donde existe la máxima sincronización electroencefalográfica (Tomada de De Andrés, 1998).

2.2. EL CICLO SUEÑO-VIGILIA DEL GATO

Por su gran propensión a dormir y a la baja actividad motora dinámica que presenta, el gato es uno de los sujetos favoritos para estudios cronobiológicos y fisiológicos del ciclo sueño-vigilia (Kuwabara, et al., 1986).

En el gato se presentan cuatro fases en el ciclo sueño-vigilia: vigilia, sueño de ondas lentas I (SOL I), sueño de ondas lentas II (SOL II) y sueño MOR (Ruckebush y Gaujoux, 1976; Sterman, et al., 1965; Ursin, 1968) (figura 2.2.). Además, existe una fase de transición entre el SOL y el MOR, llamada sueño fásico de ondas lentas (SFOL) del francés *sommeil phasique a ondes lentes* (Thomas y Benoit, 1967).

Dichas fases mantienen un patrón, hasta cierto punto, independiente de los periodos de luz y oscuridad, los cuales sólo actúan como reforzadores de un ritmo endógeno (Valdes-Cruz et al., 1997).

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

El EEG durante el ciclo sueño-vigilia en el gato es muy regular, y muestra cambios en su espectro de potencia que dependen del estado de vigilancia en el que se encuentre. En condiciones controladas, la densidad de

la potencia del EEG en SOL y en sueño MOR no cambia sistemáticamente

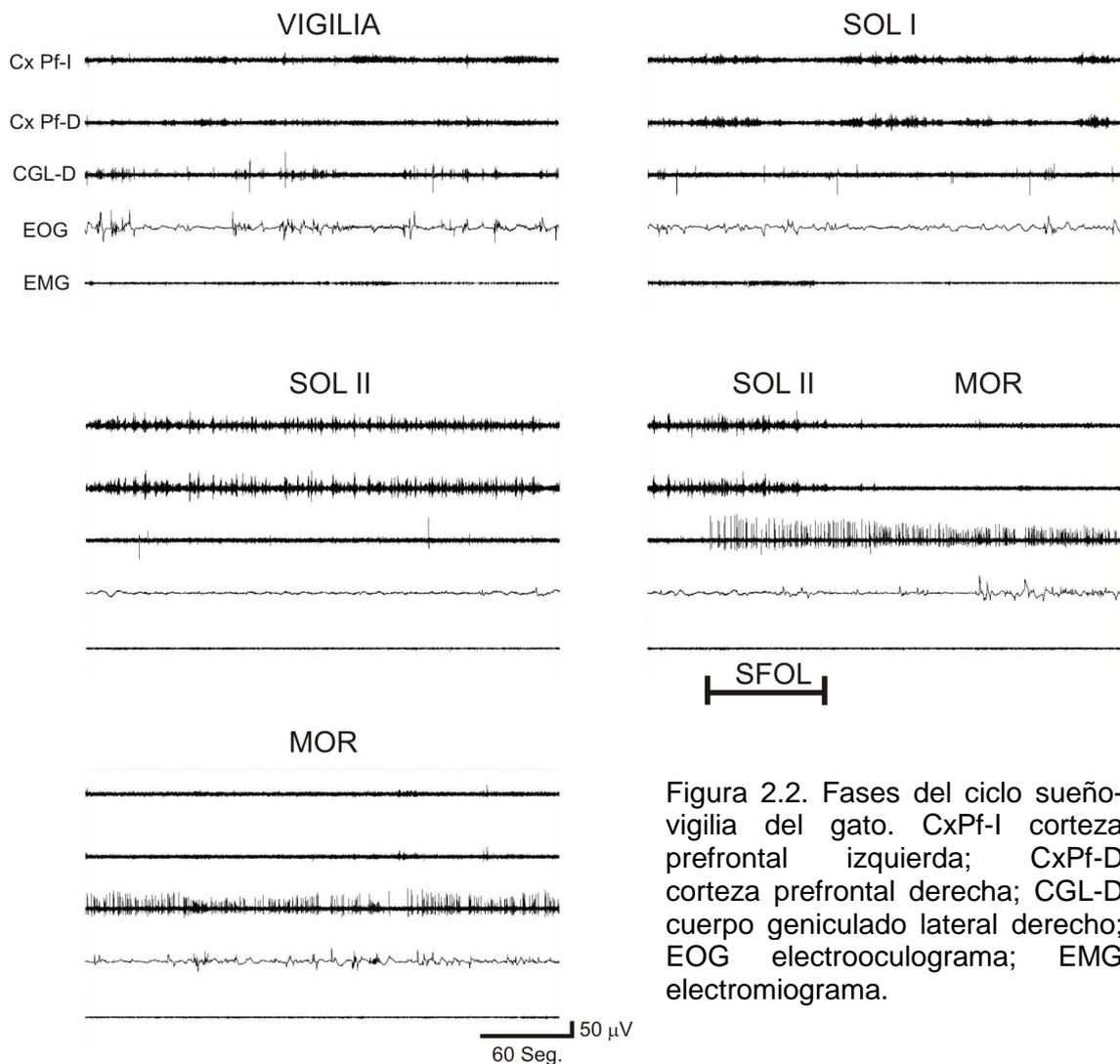


Figura 2.2. Fases del ciclo sueño-vigilia del gato. CxPf-I corteza prefrontal izquierda; CxPf-D corteza prefrontal derecha; CGL-D cuerpo geniculado lateral derecho; EOG electrooculograma; EMG electromiograma.

pero es sensible a las manipulaciones conductuales (Lancel et al., 1991, 1992) y a los tratamientos farmacológicos (Lancel, 1993).

Durante cada uno de estos estadios, ocurren a su vez variaciones cíclicas de diferentes funciones neuronales y somáticas, que evidencian que el sueño es un proceso más bien activo que pasivo, de interacción dinámica entre regiones específicas del cerebro.

2.2.1. VIGILIA

Aspectos Conductuales. En un animal despierto se pueden observar gran variedad de conductas, desde espontáneas hasta conductas elaboradas en respuesta a la estimulación ambiental (reacción de orientación). Por ejemplo, cuando está quieto, mantiene la cabeza levantada, lo que le permite responder rápidamente a los estímulos del medio ambiente: tiene los ojos

abiertos, las pupilas más o menos dilatadas de acuerdo con la naturaleza y la intensidad de los estímulos que percibe, la respiración es rápida e irregular (Ayala, 1976; 1983).

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

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

Cuando el animal se encuentra atento y mueve los ojos en función de la estimulación externa, se registra una actividad eléctrica fásica que recibe el nombre de “potenciales de movimiento ocular” (Brooks, 1968; Brooks y Gershon, 1971), los cuales pueden registrarse en la región pontina, en el cuerpo geniculado lateral del tálamo (CGL) y en la corteza occipital; cabe destacar que dichos potenciales se presentan después del movimiento ocular y su amplitud depende de la velocidad del movimiento ocular, y la disminución del voltaje se observa durante la oscuridad (Jouvet, 1972).

2.2.2. SUEÑO DE ONDAS LENTAS (SOL)

El SOL en el gato, a comparación del hombre, sólo se divide en dos etapas SOL I y SOL II, que a continuación se describen.

Aspectos conductuales. Durante la fase SOL I, el gato adopta la posición de “esfinge”, manteniendo inicialmente la cabeza erguida, dejándola caer progresivamente, y se presenta el cierre palpebral y la relajación de las membranas nictitantes. En la fase SOL II, el animal apoya la cabeza en sus patas anteriores y la actividad muscular disminuye progresivamente. Por otra parte, se aprecia la lentificación de la frecuencia cardíaca y respiratoria, además de una disminución de la temperatura y de la presión arterial (Jouvet, 1967a).

Aspectos Poligráficos. Electrofisiológicamente, el SOL I, se caracteriza por la aparición de husos de sueño (12-14 Hz) con una duración de 1 a 2 segundos, mezclados con ondas delta (1-4 Hz) de alto voltaje y con frecuencias de 13 a 26 Hz, además el tono muscular se estabiliza y disminuye en relación con la vigilia. La fase SOL II se caracteriza por la aparición en mayor proporción de la actividad delta y de actividad menor a 1 Hz sostenida y de alto voltaje, que en ocasiones alterna con la aparición de husos de sueño (Steriade et al., 1993a; Steriade y Timofeev, 2003).

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

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

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

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

Las ondas delta del tálamo son otra de las actividades rítmicas que caracteriza el EEG durante el SOL. Se ha considerado que se generan en la corteza cerebral, ya que en los trabajos realizados en gatos atalámicos se mostraba la presencia de ondas delta en el EEG (Villablanca, 1974). Sin embargo, las neuronas talámicas tienen propiedades electrofisiológicas que generan descargas de potenciales de acción a esta frecuencia que contribuyen a generar el patrón de las ondas delta. Esta actividad delta se demostró en primer lugar *in vitro* (Soltesz et al., 1991; McCormick y Pape, 1990) y posteriormente fue descrita en gatos (Steriade et al., 1991a; Curró-Dossi et al., 1992). La actividad delta del tálamo se genera por la activación de una corriente catiónica (Na^+ y K^+) denominada I_h , que tiende a llevar al potencial de membrana a niveles más despolarizados. El cambio de potencial de membrana generado por esta corriente es suficiente para disparar un potencial de acción Ca^{2+} de bajo umbral. Durante la activación de éste, la corriente I_h se inactiva y vuelve a activarse después de que ha terminado el potencial de acción. Este ciclo se repite siempre en el intervalo de 1-4 Hz, este nivel de hiperpolarización del potencial de membrana en el que las neuronas talámicas oscilan a la frecuencia delta se alcanza de forma natural durante el SOL (McCarley et al., 1983).

Registros intracelulares en gatos durante el sueño espontáneo muestran que el potencial de membrana se hiperpolariza al comienzo del SOL I y alcanza los valores más negativos durante el SOL II que tiene ondas lentas de gran amplitud (Hirsch et al., 1983). Las descargas de las neuronas talámicas se transmiten a la corteza cerebral y contribuyen a la generación de las ondas delta

que aparecen en el EEG, siempre que esta actividad aparezca sincrónicamente en las neuronas talámicas. Consecuentemente, registros intracelulares en neuronas de la corteza cerebral de gatos anestesiados o durante el sueño espontáneo presentan potenciales a la frecuencia de 1-4 Hz, generados por esta actividad delta talámica; pero además por la actividad de otras neuronas corticales como las piramidales que disparan brotes de potenciales de acción rítmicos a esta frecuencia, que contribuirían a la actividad delta mediante proyecciones cortico-corticales (Steriade et al., 1993a). Sumado a lo anterior, la actividad de las neuronas corticales a una frecuencia menor a 1 Hz se correlaciona con brotes de ondas delta en el EEG (Steriade et al., 1993a, 1993b, 1993c).

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

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

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

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

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

2.2.3. SUEÑO MOR

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

Aspectos poligráficos. El MOR se caracteriza por la desincronización EEG, atonía muscular, los MORs y la actividad ponto-genículo-occipital (PGO). Los componentes poligráficos que caracterizan al sueño MOR, han sido clasificados de acuerdo a su ocurrencia temporal en dos tipos: fenómenos tónicos y fenómenos fásicos.

Los fenómenos tónicos son aquellos cambios que persisten de manera continua durante el MOR, estos son: la actividad EEG rápida, la atonía muscular y la actividad teta hipocámpica. En cuanto a los fenómenos fásicos; son aquellos que se presentan en fases y que se repiten durante el sueño MOR. Son eventos fásicos los MORs, la actividad PGO, las contracciones de los músculos (mioclonias) y las fluctuaciones cardiorespiratorias.

A) FENÓMENOS TÓNICOS.

1.- Actividad EEG Rápida. Su frecuencia es de 20 a 30 Hz de bajo voltaje, similar a la que ocurre durante estados de hiper-alerta o de atención y se presenta en regiones diencefálicas, mesencefálicas y corticales. Lesiones en la región donde se localizan los núcleos reticular caudal del puente (RCP) y reticularis pontis oralis (RPO) suprimen la actividad cortical tanto en la vigilia como en el MOR (Jouvet, 1962), lo que sugiere que es donde se inicia dicha actividad, posteriormente, la actividad generada en el RCP y RPO ascienden a la corteza a través de relevos en el hipotálamo y en los núcleos intralaminares del tálamo, para alcanzar amplias zonas corticales (Sakai, 1985).

2.- Atonía muscular. Jouvet y Delorme (1965) fueron los primeros en proponer que la parte caudal del LC y el tegmento pontino del gato son responsables de la atonía muscular durante el MOR. A partir de sus reportes, hoy sabemos que la región involucrada en la pérdida de atonía incluye la porción medial del *Locus coeruleus-alfa* (LC- α) y la parte dorsolateral del RPO y RCP; Sakai (1980) designó a esta zona como área *Peri-locus coeruleus-alfa* (Peri-LC- α). Las células de esta región ejercen un efecto tónico excitador en las neuronas del núcleo reticular magnocelular (NRM) del bulbo raquídeo ventromedial, el cual inhibe las motoneuronas espinales durante el MOR (las neuronas pontinas juegan el papel de neuronas de comando, mientras que las medulares son neuronas de relevo) (Sakai, 1985; 1986).

3.- Actividad teta hipocámpica. Esta actividad aparece de manera continua en la porción dorsal y ventral del hipocampo, la cual es generada en el septum. En animales despiertos, aparece en brotes y ha sido asociada a conductas de orientación y desplazamiento hacia estímulos significativos, además con el procesamiento, almacenamiento y evocación de la memoria. Durante el MOR la actividad teta es regular y más rápida (5-7Hz) que en la vigilia (Jouvet, 1962; Jouvet, 1965).

B) FENÓMENOS FÁSICOS

1.- Movimientos Oculares Rápidos (MORs). Se presentan desde el inicio del MOR, con una frecuencia de 60-70 movimientos por minuto y difieren de los movimientos oculares de la vigilia por su velocidad, distribución temporal y por su patrón de ocurrencia (Jeannerod y Mouret, 1963). Pueden presentarse en forma aislada, en forma de salvas cortas (5-10 movimientos), pero la manera más característica es en salvas prolongadas de 50 movimientos aproximadamente. Dichos movimientos se originan a nivel pontino y son regulados de una manera compleja a nivel mesencefálico y del colículo superior, regiones en las que los procesos de integración cortical (facilitación de la corteza visual e inhibición de la corteza frontal) ejercen su efecto; por lo que se sugiere que los mecanismos fisiológicos de los movimientos oculares de la vigilia y del MOR son diferentes (Calvo, 1983).

En el hombre, los MORs aparecen concomitantes a las ensoñaciones (Dement y Kleitman, 1957); se ha mostrado la coincidencia de salvas prolongadas de MORs con sueños activos y de MORs aislados con sueños pasivos, además de la relación entre las ensoñaciones con un alto contenido emocional con la aparición de un número elevado de movimientos oculares rápidos de gran amplitud (Dement y Wolpert, 1958; Berger y Oswald, 1962; Goodenough et al., 1965).

2.- Actividad Ponto-Genículo-Occipital (PGO). La actividad, potenciales u ondas PGO, son quizá la actividad fásica principal del sueño MOR, descrita por primera vez por Juvet y Michel (1959) al registrar la formación reticular durante el sueño MOR. La denominación PGO indica que en estas tres estructuras y en el orden mencionado, fueron donde se registraron inicialmente (Ayala, 1983). Primero Juvet (1959) en el puente, posteriormente Mikiten (1961) en el CGL y Mouret (1963) en la corteza occipital.

Numerosos estudios anatómicos y fisiológicos sugieren que las estructuras involucradas en la generación de la actividad PGO, se localizan en amplias redes neuronales de la región pontina. La región peribraquial (rPBL), la región dorsolateral del tegmento pontino, el tegmento pedúnculo pontino (TPP) y una región vecina al LC denominada "Área X" (Callaway, et al., 1987; Sakai, 1986, Datta, 1997).

Por el hecho de preceder siempre al MOR (Thomas y Benoit, 1967) y aumentar su frecuencia durante esta fase del sueño, muchos investigadores han propuesto que los mecanismos generadores de los potenciales PGO constituyen un componente central de los mecanismos de inducción y mantenimiento del MOR, a través de un mecanismo colinérgico (Datta, et al., 1992; Dement, et al., 1970; Dusan-Peyrethon, et al., 1967; Foote, 1973; Malcom, et al., 1970; Mc Carley, et al., 1978; Steriade y McCarley, 1990).

3.- Contracciones de los músculos. Otro de los eventos fásicos del MOR son las sacudidas musculares (que se correlacionan ampliamente con las salvas de movimientos oculares), que son más notables en los músculos de la cara y en los miembros distales (Gassel, et al., 1964). Los primeros informes identificaron al sistema retículo-espinal como el involucrado en las sacudidas musculares fásicas (Marchiafava y Pompeiano, 1964; Gassel, et al., 1964, 1965); y la actividad unitaria de las células de la formación reticular (que poseen proyecciones directas a las motoneuronas espinales y craneales) con los movimientos asociados al MOR (sacudidas) (Vertes, 1977, 1979; Siegel, et al., 1977; Siegel y Tomaszewski 1983; Siegel, et al., 1983).

4.- Fluctuaciones cardiorespiratorias. Los cambios autónomos durante el MOR -incrementos en la tasa cardíaca y en la presión sanguínea, así como en la respiración- han sido atribuidos al complejo parabraquial. Las células del complejo parabraquial medial considerado el locus del centro neumotáxico (Bertrand y Hugelin, 1971; Cohen, 1971; St John, et al, 1971; Bertrand, et al., 1973; Knox y King, 1976, 1976) muestra cambios en su patrón de actividad correlacionados con las fluctuaciones respiratorias durante el MOR (Lydic y Orem, 1979; Sieck y Harper, 1980a; Harper y Sieck, 1980).

Existe además una interrelación recíproca entre el ciclo sueño-vigilia y el sistema endocrino. El sueño tiene un efecto positivo a nivel de síntesis, almacenamiento, liberación y acción de diferentes hormonas, particularmente aquellas que tienen una estrecha regulación neuroendocrina, es decir, aquellas hormonas en cuya regulación interviene el sistema nervioso. Por el contrario las hormonas o productos intermedios ya sea de su síntesis o de su degradación pueden, cuando se les administra exógenamente, modificar substancialmente las características del patrón de sueño.

Recientemente se sabe que el sueño tiene una naturaleza múltiple (Steriade, 1992) y, en consecuencia, cada fase (MOR o NMOR) implica una fisiología y estructuras celulares diferentes, como veremos a continuación.

3. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL SUEÑO

El estudio del sueño a nivel del sistema nervioso central comenzó con los trabajos de Von Economo en 1930, quien describe a través de correlaciones anatomopatológicas en casos de hipersomnia y de agitación con insomnio, “centros” para la vigilia (supraquiasmático y en el hipotálamo anterior) y para el sueño (ocupando un área extensa del tálamo caudal y del mesencéfalo). Aunque no tan localizadas, las observaciones posteriores han confirmado en general que en casos de somnolencia y de hipersomnia, de diferentes etiologías, las lesiones se distribuyen en el hipotálamo, tálamo, mesencéfalo, protuberancia y bulbo raquídeo. Asimismo, como ya se ha mencionado, en este mismo período surgió la posibilidad de registrar percutáneamente la actividad eléctrica del cerebro humano, gracias al trabajo de Berger.

Ya en 1938, Bremer utilizando gatos en preparación *encéphale isolé* (encéfalo aislado, en la que se practica una sección entre el bulbo y la médula espinal) describe un estado alternante de vigilia y fases de somnolencia o sueño, pero con una tendencia marcada hacia la desincronización EEG y los signos oculares de lo que hoy denominamos MOR, además de que el cerebro podía activarse con estímulos sensoriales, utilizando la preparación *cerveau isolé* (cerebro aislado, en la que se realiza una sección entre los colículos superior e inferior) los animales presentaban un estado de coma irreversible con actividad EEG delta no reactivo a estímulos sensoriales. Estos descubrimientos dieron origen a la *teoría pasiva del sueño* o *hipótesis de la desafrentación*, que propone que el sueño sobreviene en forma pasiva debido a la falta de estimulación sensorial del sistema de la vigilia.

Más tarde, Moruzzi y Magoun (1949), descubren una formación neural específica, responsable del mantenimiento del estado de vigilia, al cual denominaron Sistema Reticular Activador (SRA) al lesionar y estimular eléctricamente la formación reticular mesencefálica. A partir de sus resultados se postulaba que la vigilia estaría condicionada por la influencia continua de la formación reticular, activada por influjos de tipo sensorial, lo cual no contradecía lo propuesto por Bremer, solamente modificaba la hipótesis del sueño por desafrentación; puesto que, el sueño seguía interpretándose como

la ausencia de la vigilia, provocado por la falta de la influencia activadora del SRA, dando origen a la *hipótesis de la desafrentación reticular*, y que se vio fortalecida por los trabajos de Lindsley y cols., entre 1949 y 1950.

Tales ideas no explicaban el origen de la desactivación de estos sistemas al iniciarse el sueño; el mantenimiento de su desactivación a lo largo del sueño y la tendencia a desactivarse con la prolongación de la vigilia, por lo cual resultaban inadecuadas. Sin embargo, sus datos son de gran valor pues delimitaron una región comprendida entre los culículos y el bulbo raquídeo, que juega un papel importante en la instalación de la vigilia y el sueño.

No fue hasta 1944 con los trabajos de Hess, al lograr producir sueño por estimulación eléctrica del tálamo y el hipotálamo posterior, cuando se sentaron las bases para formular otra hipótesis, esta vez, una *hipótesis activa del sueño*, que considera al sueño no sólo como la ausencia o la disminución de la vigilia, sino como un estado fisiológico especial, inducido activamente y controlado por estructuras específicas, de manera importante y compleja.

En cuanto a la investigación del sueño en animales, siguió dos puntos de vista diferentes: el neurofisiológico y el neurohumoral. Desde el punto de vista neurohumoral, Pieron (1913), suponía que el inicio del sueño se debía a la acumulación de factores Humorales (hipnotoxinas) y consideraba que algunos compuestos hipnógenos acumulados en la sangre o en el líquido cefalorraquídeo (LCR), durante la vigilia, alcanzaban un nivel depresor de las zonas de integración de la vigilia. Apartir de esto, han sido descritos varios factores hipnógenos putativos, entre otros el ácido láctico, el dióxido de carbono, el colesterol, sustancias hipnógenicas no identificadas aisladas del dializado sanguíneo de animales donadores en sueño profundo.

Aunque en años recientes se ha incrementado enormemente el número de investigaciones sobre el sueño, estudiándolo con técnicas tales como las electrofisiológicas, farmacológicas, bioquímicas, histoquímicas, etc., no se conoce todavía, en su totalidad, el papel biológico que desempeña; su significado podría llegar a explicarse en base al estudio comparativo del ciclo sueño-vigilia y los procesos intrínsecos. Por otra parte, el análisis del grado de desarrollo que presentan cada una de las fases que caracterizan al sueño en el transcurso de la evolución zoológica, paralelamente con las modificaciones encefálicas y fisiológicas que exhibe cada grupo particular de vertebrados,

ofrece grandes posibilidades para comprender su significado biológico tanto en los animales como en el hombre.

3.1. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE LA VIGILIA

En los mamíferos, existen varios sistemas promotores de vigilia (Datta y Maclean, 2007; Datta, 1995). La identificación de estos sistemas comenzó en los años 40, con experimentos de transección y estimulación eléctrica en el gato. En estos primeros experimentos, Moruzzi y Magoun sugirieron que el estado de vigilia requiere un nivel crítico de actividad cerebral que es mantenido por un flujo constante de impulsos nerviosos ascendentes originados en la formación reticular del tronco del encéfalo (Moruzzi y Magoun, 1949; Moruzzi, 1964; Moruzzi, 1972). Poco después, el área excitable de este sistema reticular activador ascendente (SRAS) fue localizado en amplias regiones del puente y el mesencéfalo. El avance de las técnicas anatómicas y fisiológicas ha permitido identificar la naturaleza neuroquímica de los grupos celulares de los sistemas promotores de la vigilia dentro del SRAS (Datta y Maclean, 2007). Estos grupos neuronales son células noradrenérgicas del LC, células serotoninérgicas (5-HT) de los núcleos del rafe, neuronas colinérgicas del TPP y del tegmento laterodorsal (TLD), células glutamatérgicas dentro del *cerebro medio*, y dopaminérgicas de la sustancia negra parte compacta (SNc) y del área tegmental ventral. Las proyecciones de estos sistemas de neurotransmisión pontino y mesencéfalo viajan dorsalmente para activar el sistema tálamo-cortical, así como ventralmente para activar los sistemas hipotálamo-corticales y basal-corticales (Datta, 1995; Moruzzi, 1974; García-Rill, 2002; Sakai y Crochet, 2003).

Además de los grupos promotores del despertar del SRAS, hay por lo menos otros cinco grupos de células dentro del cerebro anterior que podrían promover la vigilia de forma independiente y/o en coordinación con el SRAS (Swett y Hobson; 1968; Szymusiak y McGinty, 1989; Maquet et al., 1990; Alam, et al, 1999; 2002; Koyama, et al., 2002; Parmentier, et al., 2002; Deboer, et al., 2003; Gerashchenko, et al., 2003; Mendelson, et al, 2003; Easton, et al., 2004; Gerashchenko y Shiromani, 2004a,b; Takahashi, et al 2006; Vertes, 2006). Estos se localizan en el prosencéfalo y son grupos celulares que contienen histamina dentro del núcleo tuberomamilar del hipotálamo posterior, hipocretinas u orexinas dentro del hipotálamo lateral, células colinérgicas

dentro del cerebro anterior basal, células que contienen el neuropéptido Y dentro del núcleo supraquiasmático, y células glutamatérgicas en la corteza prefrontal ventro-medial.

La activación espontánea o experimental de estos sistemas facilita los patrones de actividad cortical necesarios para mantener la vigilia. Sin embargo, ninguno de estos grupos es absolutamente necesario para la generación y mantenimiento de este particular estado de vigilancia (Gerashchenko y Shiromani, 2004). Por esta razón, la lesión de alguno de estos grupos celulares es incapaz de causar cualquier cambio significativo en la cantidad del tiempo total de vigilia.

3.2. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL SOL

El SOL es considerado el estado más inactivo del cerebro. Uno de los eventos más importantes para la instalación de esta fase de sueño, es en primer lugar, la reducción de la actividad neuronal de regiones cerebrales promotoras de la vigilia y por otra parte, la reducción de transmisión de información sensorial a la corteza a través del tálamo, ya que durante este estado, la información sensorial de éste se suspende.

El intercambio sensorial a nivel del tálamo es logrado cuando las neuronas de relevo talámico son hiperpolarizadas por actividades en "burst" de células GABAérgicas del NRT (Llinas y Steriade, 2006). Dicha actividad GABAérgica puede ser originada por la activación de neuronas GABAérgicas del área preóptica del hipotálamo (APO) (Krueger y Obal, 2003; Obal y Krueger, 2004).

Una de las estructuras implicadas en la instalación del sueño es el hipotálamo. Nauta (1946), mostró que las lesiones de la región anterior del hipotálamo, en el APO de la rata, provoca un estado de insomnio. Posteriormente se propuso que el núcleo supraquiasmático del hipotálamo juega un papel fundamental en la regulación del ciclo sueño-vigilia, su lesión provoca la desorganización circádica de los periodos de sueño; además de la participación en el ciclo sueño-vigilia, el supraquiasmático es fundamental para otros ritmos circádicos, por lo que es considerado un oscilador circádico (Ibuka y Kawamura, 1975; Rusak y Suker, 1979; Moore, 1992).

Recientemente, se ha identificado una población específica de neuronas GABAérgicas activas durante el sueño, localizadas dentro el APO ventrolateral

y en el núcleo preóptico medio que posiblemente pueden servir para disparar y/o mantener los episodios de sueño. Se ha demostrado que estas neuronas son metabólicas y fisiológicamente activas durante el SOL y el MOR, lo cual indica que su actividad se relaciona con la expresión y regulación del sueño, más que con la actividad EEG cortical y se ha sugerido que este aumento en su actividad, constituye el primer factor responsable para la inducción del SOL (Rosenwasser, 2009).

Consistente con estos hallazgos, un estudio usando resonancia magnética funcional en ratas, demostró que la APO presenta mayor actividad que otras áreas del hipotálamo y el cerebro anterior basal durante el SOL (Khubchandani, et al., 2005); por otra parte, otros estudios con microinyección local apoyan que la APO desempeña un importante papel en la generación del SOL. (Datta, et al., 1985; Datta, et al., 1988; Kumar et al., 1986; Mendelson y Martin, 1992; Ticho y Radulovacki, 1991).

También se ha resaltado la participación de las neuronas de orexinas para la instalación del SOL, ya que estas células son inhibidas por las descargas gabaérgicas y de galanina que se originan en el APO y basal anterior, específicamente del APO ventrolateral. La actividad de las orexinas es menor durante el SOL que durante la vigilia. Al inhibirse las orexinas se inhiben también, aunque no totalmente, todas las estructuras que provocan el despertar o la vigilia, excepto los núcleos TLD y TPP responsables de los MORs, los cuales sí se inhiben completamente.

El tálamo también está implicado en los mecanismos del SOL. Anteriormente, se hizo referencia a los estudios pioneros llevados a cabo por Hess (1944), quien comprobó que la estimulación del tálamo medial induce sueño en animales en experimentación.

El intercambio sensorial a nivel del tálamo es logrado cuando las neuronas de relevo talámico son hiperpolarizadas por actividades en "burst" de células GABAérgicas del NRT (Llinas y Steriade, 2006). Dicha actividad GABAérgica puede ser originada por la activación de neuronas GABAérgicas del APO (Krueger y Obal, 2003; Obal y Krueger, 2004).

Sin embargo, no se ha podido demostrar que en esta región haya un número tan consistente de neuronas que específicamente aumenten su actividad durante el SOL, lo cual daría mayor solidez a lo anterior.

Resultados experimentales sugieren la participación de la región del NTS en la generación del sueño, en especial del SOL. Desde 1965, Aker propuso que las áreas involucradas en los procesos de sueño son las de alrededor del NTS. La estimulación eléctrica o farmacológica de dicha estructura, da como resultado un estado de sueño tanto conductual como electrográfico; mientras que la destrucción bilateral o eliminación funcional de esta región es seguida de un estado de insomnio y un aumento del estado de alerta (Puizillout y Foutz, 1976; Bremer, 1997; de Andrés, 1998).

El concepto original de los factores inductores de sueño fue propuesto inicialmente por Piéron en 1913, quien describió que la intensa necesidad de dormir observada en perros mantenidos en vigilia prolongada (150-193 horas), pudo ser provocada en perros que habían dormido *ad libitum* y que fueron receptores del LCR extraído de perros privados de sueño. No solamente el LCR tuvo propiedades hipnógenas, sino también la sangre y una emulsión hecha con el tejido cerebral. Piéron concluyó que durante la vigilia se acumula una sustancia que induce sueño a la cual llamo hipnotoxina, dicha teoría es conocida como teoría hipnogénica del sueño. Los trabajos de Piéron fueron muy discutidos y cayeron en el olvido. No obstante, están nuevamente a la orden del día desde el momento en que se demostró la existencia de péptidos "facilitadores de sueño". Otros estudios han demostrado que algunas sustancias pueden ser obtenidas posterior a la privación de sueño, en sangre (Monnier y Hosli, 1964), orina (Krueger et al., 1982) y tejido cerebral (Inoue, et al., 1984). Varios investigadores han dirigido sus trabajos hacia la identificación de este factor hipnógeno, encontrando no uno, sino varios, que se acumulan en la sangre como el Factor "S", de origen peptídico, en el LCR como el Péptido Inductor de Sueño Delta, o bien, que tiene una amplia distribución en el cerebro incluyendo al rafe y el hipotálamo como el péptido vasoactivo intestinal (VIP), entre otras sustancias promotoras de sueño (ver tabla 1).

Por otra parte, cada vez se conoce mejor el papel de las hormonas en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Los ritmos circadianos de sustancias hormonales como la hormona del crecimiento, el cortisol, la melatonina y la prolactina inducidos en gran parte por los "zeitgebers" (relojes internos o endógenos) acompañan el proceso del ciclo sueño-vigila. Se ha reportado que los niveles en porcentajes del cortisol y la hormona adrenocorticotrópica

(ACTH) son más bajos hacia la media noche y los más altos hacia las 6 de la mañana. La hormona del crecimiento alcanza su máximo nivel poco después de que el sujeto se queda dormido. La melatonina se empieza a segregar de acuerdo con el ciclo luz oscuridad e induce la aparición del sueño. La función anabólica del sueño está confirmada por: el incremento de la absorción de los aminoácidos por los tejidos, el aumento en la síntesis de las proteínas, el incremento de la síntesis del RNA y el aumento de la eritropoyesis. La secreción de prolactina es máxima durante el sueño.

Tabla 1. Algunas moléculas determinadas como “factores inductores de sueño”

<i>Molécula</i>	<i>SOL</i>	<i>sMOR</i>	<i>Molécula</i>	<i>SOL</i>	<i>sMOR</i>
Insulina	↑	↑	VIP	=	↑
PRL	=	↑	DSPI	↑	=
GH	=	↑	CLIP	=	↑
CCK-8	↑	↑	IL-1	↑	=
Somatostatina	=	↑	INF- α	↑	=
CRF	=	↑	TNF	↑	=
GHRF	↑	=	Uridina	↑	=
Oleamida	↑	↑	Anandamida	↑	↑

= significa sin cambio y ↑ incremento

PRL: prolactina, GH: hormona del crecimiento, CCK-8: colecistoquinina, CRF: factor liberador de corticotropina, GHRF: factor liberador de hormona del crecimiento, VIP: péptido vasoactivo intestinal, DSPI: péptido inductor de sueño delta, CLIP: péptido intermediario de corticotropina, IL-1: interleucina 1, INF- α : interferon α , TNF: factor de necrosis tumoral (Tomada de García-García y Drucker-Colín, 1999; Garcia-Garcia y cols, 2009 y Franco-Pérez, 2001).

Aunque el sueño y la vigilia tienen circuitos neuronales propios para su generación, también es cierto que en la vigilia, una mayor actividad neuronal conlleva un mayor metabolismo y se ha demostrado que éste causa una acumulación proporcional de factores metabólicos que pueden influir en el sueño. La acumulación de estos factores metabólicos hasta un nivel crítico estaría implicada en el inicio del sueño, sobre todo en promover el SOL, ya que durante el sueño, estos metabolitos se reducirían hasta sus niveles basales (Carús-Cadavieco y de Andrés, 2012). Entre las moléculas que cumplen con estas condiciones se encuentran la adenosina. Es de señalar que la cafeína y

la teofilina (de amplio consumo humano como estimulantes) son potentes bloqueadores de los receptores de adenosina.

Aunque se ha investigado bastante sobre las ondas lentas del cerebro, no ha habido forma hasta ahora de obtener respuestas definitivas sobre los circuitos cerebrales subyacentes. Recientemente, se ha logrado averiguar dónde y cómo se originan las ondas lentas del cerebro. El equipo de Arthur Konnerth ha demostrado de forma concluyente que las ondas lentas comienzan en la corteza cerebral, la región responsable de las funciones cognitivas y también ha comprobado que una onda de esa clase puede ser puesta en marcha por un pequeño grupo de neuronas.

Las investigaciones previas, las cuales se basaron principalmente en mediciones eléctricas, no tuvieron la resolución espacial necesaria para cartografiar con precisión la puesta en marcha y la propagación de las ondas lentas. Pero usando luz por medio de técnicas ópticas de estimulación (optogenetic approach), el equipo de Konnerth pudo generar ondas lentas y observarlas con un nivel de detalle sin precedentes (Stroh et al., 2013).

3.3. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL MOR

El sueño MOR es el resultado de mecanismos serotoninérgicos preparativos, mecanismos catecolaminérgicos y colinérgicos de instalación y mantenimiento, así como de factores humorales en el LCR. En condiciones normales, el MOR siempre está precedido por el SOL, la transición directa entre la vigilia y el MOR sólo se observa en el caso de la narcolepsia, que se traduce en una desaparición súbita del tono muscular que puede provocar la caída del individuo (accesos catapléxicos). Frecuentemente, estos accesos catapléxicos se acompañan de ensoñaciones y el sujeto pierde el contacto con el mundo exterior (raras veces el sujeto permanece consciente).

Existe una especificidad de algunas neuronas serotoninérgicas relacionadas con el sueño MOR, se trata de la región caudal del rafe, en especial los núcleos *pontis* y *magnus*, que al ser destruidos, provoca la desaparición casi total del MOR (el SOL disminuye un 40%); lo que sugiere que tales núcleos intervienen en los mecanismos preparativos del sueño MOR. Dichas estructuras proyectan sus axones hacia la parte dorsolateral del tegmento pontino, donde se localizan estructuras que intervienen en su instalación.

Se ha demostrado experimentalmente que la inhibición de la *triptofano hidroxilasa* mediante la administración de paraclorofenilalanina (PCPA) provoca una disminución importante del SOL y del MOR, efecto que es fácilmente reversible al administrar dosis bajas de DL-5-hidroxitriptofano (Jouvet, 1972), por lo que se ha propuesto la existencia de una relación entre la disminución en la síntesis de 5-HT y la disminución de MOR.

En los mecanismos de instalación del MOR, las catecolaminas (dopamina, NA y adrenalina) juegan un papel trascendente. Al disminuir los niveles de catecolaminas cerebrales se provoca un estado de insomnio con abolición del MOR, efecto que puede revertirse en corto tiempo con la aplicación de dopamina (Jouvet, 1972). Asimismo, la administración de alfa-metil-DOPA, sustancia que da origen a un falso neurotransmisor que desplaza a la NA (alfa-metil-NA), suprime la aparición del sueño MOR durante 16-20 horas (Dusan-Peyrethon et al., 1968); mientras que la administración de Disulfirm (sustancia que afecta al metabolismo de la NA), provoca la disminución del MOR y del estado de vigilia (Dusan-Peyrethon y Froment, 1968).

Las neuronas del campo tegmental gigantocelular (CTG) también parecen desempeñar un papel importante en la generación del MOR (McCarley y Hobson, 1971; Hobson et al., 1974, Steriade y Hobson, 1976), pues incrementan su frecuencia de disparo durante el MOR. Sin embargo, presentan un patrón de disparo fásico tanto en la vigilia como en el MOR, lo que sugiere que este conjunto de neuronas no está relacionado selectivamente con la generación del MOR (Sastre et al., 1981; Sakai et al., 1983; Steriade et al., 1984), sino que el sueño MOR ocurre en consecuencia de la interacción recíproca entre las neuronas colinérgicas del CTG y grupos de neuronas monoaminérgicas del NDR y el LC. En este sentido, se ha descrito que la lesión electrolítica y química de esta estructura no afecta los aspectos cuantitativos y cualitativos del MOR (Sastre et al., 1981).

También en la instalación del MOR participan mecanismos colinérgicos. Desde 1965, Hernández-Peón propuso un sistema inductor de sueño de naturaleza colinérgica, al inducir sueño MOR mediante la aplicación local de cristales de Ach, en la región preóptica medial. Sin embargo, en experimentos posteriores se demostró que las observaciones de Hernández-Peón eran en

realidad una transición directa de la vigilia al MOR; así la aplicación de agonistas colinérgicos, como el carbacol y la oxotremorina, en la protuberancia, incluyendo el CTG en animales despiertos, produce la aparición inmediata de episodios prolongados de sueño MOR (George et al., 1964).

Se ha destacado además la participación de un factor de naturaleza proteínica en los mecanismos de instalación y mantenimiento del MOR. Drucker-Colín et al. (1970, 1973), utilizando sistemas de cánulas "push-pull" para recolectar el líquido perfundido en la formación reticular mesencéfala durante el sueño de gatos, encontraron una relación directa entre la aparición del sueño MOR y el aumento de proteínas cerebrales, proponiendo que durante el sueño MOR se generan más proteínas que durante la vigilia o el SOL y que dichas proteínas son específicas de esta fase de sueño. Se ha propuesto que este factor del MOR, al igual que el mencionado para el SOL, se secreta del hipotálamo para almacenarse en el LCR o en la sangre y posteriormente poner en marcha los mecanismos catecolaminérgicos y colinérgicos de instalación del sueño MOR.

También se ha propuesto que a nivel del hipotálamo, la 5-HT pone en marcha un mecanismo hipotálamo-hipofisiario que genera un factor peptídico, el cual activa los mecanismos pontinos ejecutores del sueño MOR (Jouvet, 1984b). Existen evidencias de que dicho factor puede estar bajo la influencia inhibitoria de la región postero-ventral del hipotálamo, pues su lesión provoca el aumento significativo del sueño MOR (Sallanon et al., 1986; Jouvet, 1988). Por lo tanto, existen dos centros hipotálamicos para la regulación del sueño MOR, uno anterior facilitatorio y otro posterior inhibitorio.

Diferentes neuropéptidos han sido involucrados en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Los primeros reportes mostraron que la administración intracerebroventricular (i.c.v) de neuropéptidos como la angiotensina II, la renina, sustancia P y la arginina-vasotocina, disminuyen el MOR a expensas de un aumento de SOL (Riou, et al.,1982a). Por otra parte, la CCK-8, la neurotensina, la met y leu-encefalina, no modifican el ciclo sueño-vigilia en ratas normales (Riou, et al.,1982b). Solamente VIP, que se encuentra distribuido en el núcleo supraquiasmático y en el tronco del encéfalo, provoca el aumento del SOL y del MOR, y revierte la abolición del sueño MOR provocado por la administración de PCPA (Riou et al.,1982c; Drucker-Colin et

al., 1990). También se ha demostrado que la ACTH aumenta el tiempo total de vigilia, mientras que péptidos derivados de la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) y el péptido parecido a la corticotropina (CLIP), aumenta el SOL y el MOR (Chastrette y Cespuglio, 1985).

En los mecanismos centrales del sueño MOR participan células colinérgicas, a las que se les denomina "*REM-on*" y células monoaminérgicas (serotoninérgicas, noradrenérgicas y posiblemente adrenérgicas) llamadas "*REM-off*". Las primeras se localizan en el tegmento pontino mediodorsal, en especial en el TLD y TPP. Las células *REM-off* se distribuyen difusamente en el tronco del encéfalo, principalmente en el NDR, el LC y la rPBL. Al registrar las células *REM-on* y *REM-off* simultáneamente, se observa un cambio de actividad en ambos tipos de células, cambios relacionado estrechamente con las transición del SOL al MOR y viceversa. Las *REM-on* disparan de manera tónica y específicamente durante los periodos de MOR, mientras que las *REM-off* cesan su disparo durante este periodo del sueño; esto sugiere que las neuronas *REM-on* juegan un papel ejecutador en la instalación y mantenimiento del MOR, mientras que las *REM-off* un papel permisivo en la generación del MOR (Sakai, 1985; 1986).

La aplicación tópica de carbacol en el Peri-LC- α , LC- α , y en el campo magnocelular del tegmento pontino (CTM), provoca la aparición de episodios prolongados de sueño MOR, con una latencia corta (5 a 7 minutos) (Vivaldi et al., 1980; Baghdoyan et al., 1984; Vanni-Mercier et al., 1989; Yamamoto et al., 1990a; Yamamoto et al., 1990b; Vanni-Mercier et al., 1991).

Un hecho destacable es que las zonas colinoceptivas más sensibles para la inducción del sueño MOR (CTG y el CTM) por la aplicación de carbacol (Baghdoyan et al., 1984a; Vanni-Mecier et al., 1989; Yamamoto et al., 1990a; Yamamoto et al., 1990b), carecen en absoluto de células colinérgicas (Shiromani et al., 1988). Esto dio lugar a pensar que los impulsos colinérgicos para la inducción del MOR tiene su origen en la rPBL, donde se ha demostrado la presencia de cúmulos de células colinérgicas (Dolabela y Singer, 1987; Jones y Beaudet, 1987) que proyectan abundantes eferencias hacia el CTG y el CTM (Mitani et al., 1988; Quattrochi et al., 1989).

En 1992, Calvo con la colaboración de Datta, Quattrochi y Hobson, para confirmar la hipótesis de que los impulsos colinérgicos que inducen al MOR se

originan en la rPBL, llevaron a cabo un mapeo del efecto de microinyecciones de carbacol en esta región, encontrando que una sola microinyección provoca durante 20 a 24 horas un estado de activación EEG y la ocurrencia ininterrumpida de salvas de potenciales PGO, de manera independiente de las fases de sueño y de manera ipsilateral al sitio de la microinyección. También encontraron que este fenómeno va seguido del aumento duradero (6 a 8 días) y significativo de los episodios de SFOL y del sueño MOR. Actualmente, sabemos que los potenciales PGO se restringen progresivamente a los episodios de SFOL y del sueño MOR, pero su densidad (número de potenciales PGO/minuto) continua significativamente aumentada (Calvo et al., 1991; Datta et al., 1992; Hobson et al., 1993).

Del mismo modo, se propone que impulsos colinérgicos para la inducción del sueño se originan en la rPBL (Dolabela y Singer, 1987; Jones y Beaudet, 1987), que es donde se generan los potenciales PGO (Mitani et al., 1988; Quattrochi et al., 1984) a partir de impulsos colinérgicos hacia la región dorsolateral del tegmento pontino, que es una zona colinoceptiva para la inducción del MOR (Yamamoto et al., 1990a). Además, la estimulación colinérgica de la rPBL provoca la pronta aparición de potenciales PGO en el CGL ipsilateral a la estimulación, y aumenta la densidad de tales potenciales durante el MOR. (Datta et al., 1991; Hobson et al., 1993).

3.4. MODELOS SOBRE EL SUEÑO

3.4.1. LOS PROCESOS HOMEOSTÁTICO, CIRCÁDICO Y ULTRADIANO DEL SUEÑO

Son muchas las teorías propuestas y los modelos formulados sobre ese complejo engranaje que se encarga de regular el ciclo sueño-vigilia. De todos estos modelos, quizás uno de los más completos sea el descrito por Borbély en 1982, que integra los dos mecanismos fundamentales que regulan el sueño. Borbély denominó proceso S a la homeostasis y proceso C al ritmo circadiano, y fue capaz de relacionarlos y explicar su influencia sobre el sueño mediante el ya citado modelo de los dos procesos.

A partir de este modelo, se ha propuesto que el sueño está regulado por tres procesos: el homeostático, el circádico y el ultradiano (Borbély y Achermann, 1992).

Brevemente, el proceso homeostático (S) incrementa en relación directa con el tiempo total de vigilia. Esto determina la cantidad de SOL que aparecerá en la primera parte del dormir, de tal manera que cuando un individuo se mantiene más tiempo despierto, más “presión” de sueño tiene y una vez que empieza a dormir esta presión de sueño disminuye rápidamente.

El proceso circádico (C) es cercano a 25 h y se refiere a la influencia del reloj interno cerebral que interactúa con el ciclo sueño-vigilia a través de la promoción de ambos. El proceso C aumenta la presión de sueño a través del día y alcanza su pico máximo poco antes del inicio habitual del dormir disminuyendo a través de la noche y alcanza su mínimo antes de despertar. El proceso C es sincronizado por la información del medio (luz-oscuridad) en un rango de 24 h, pero no impide su aparición. Así, el proceso C sirve para consolidar la vigilia al final del día cuando el proceso S es alto y también para consolidar el sueño al final de la noche cuando el proceso S es bajo. Estos procesos son independientes en condiciones normales y como resultado de su interacción se sucede diariamente una cuota nocturna determinada de 7-9 h de sueño y una de 15-17 h de vigilia. Por último, el proceso ultradiano ocurre durante el sueño y regula la forma en que se alternan el SOL y el sueño MOR durante las 24 h. La aparición del SOL o del sueño MOR ocurre cuando la presión de sueño de los procesos homeostático, circadiano y ultradiano llegan al máximo (Borbély y Achermann, 1992; Ver revisión: Achermann, 2004).

3.4.2. INTEGRACIÓN DE LOS SISTEMAS NEUROQUÍMICOS EN MODELOS “FLIP-FLOP” PARA LA REGULACIÓN DEL SOL Y EL MOR

Los sistemas neuroquímicos y neuromoduladores del tronco del encéfalo se encuentran activos de manera diferencial entre la vigilia y el sueño. Para poder entender cómo se regula el sueño es necesario tener en consideración las interacciones recíprocas entre los distintos sistemas de vigilia y los núcleos promotores del sueño. Una serie de grupos neuronales monoaminérgicos los cuales podemos denominar sistemas de vigilia están localizados en el LC (NA), los núcleos del rafe (5-HT) y el núcleo tuberomamilar (histamina). Las neuronas de dichos núcleos comparten la característica que su tasa de disparo es mayor durante la vigilia, va disminuyendo durante el SOL y prácticamente dejan de descargar durante el MOR. La alta actividad de los núcleos monoaminérgicos

durante la vigilia modula la actividad del núcleo preóptico medio y el APO ventrolateral, los cuales son regiones GABAérgicas que promueven principalmente el SOL. Por el contrario, durante el SOL estos núcleos descargan rápidamente y dado que su naturaleza es GABAérgica, inhiben a los grupos monoaminérgicos. Saper (2010) denominó a esta interacción recíproca como “interruptor flip-flop”, ya que es un circuito de retroalimentación que genera dos posibles patrones de descarga. Este interruptor puede ayudar a producir transiciones entre la vigilia y el SOL e incluso se ha propuesto que es estabilizado por las neuronas orexinérgicas del hipotálamo lateral, que pueden excitar a los sistemas promotores de la vigilia y así asegurar su prevalencia (Franco-Pérez, 2011).

3.4.3. MODELO DE LA INTERACCIÓN RECÍPROCA

Hobson y McCarley propusieron en 1975 el “modelo de la interacción recíproca” para explicar la generación del MOR. Este modelo se basaba en el hecho de que durante el MOR, las neuronas colinérgicas, denominadas *REM-on* incrementan su tasa de disparo, mientras que las neuronas monoaminérgicas *REM-off* (por inhibir la aparición del MOR), prácticamente cesan su actividad. Se propuso que durante la vigilia el sistema monoaminérgico estaba tónicamente activo, de esta forma tenía la capacidad de inhibir la actividad del sistema colinérgico y finalmente impedir la aparición de MOR.

Por el contrario, durante el SOL la inhibición monoaminérgica disminuía permitiendo cierta excitación colinérgica la cual alcanzaba sus picos máximos al comienzo del MOR, promoviendo de esta manera la generación del MOR, por medio de la inactivación del LC y el NDR y la activación de los núcleos colinérgicos del tronco del encéfalo (figura 3.2.A).

En contraste a este primer modelo en el que enfatiza principalmente interacciones de neuronas monoaminérgicas y colinérgicas, en el 2006 se propuso un nuevo modelo en donde el principal mecanismo para la generación de MOR añadía interacciones recíprocas entre poblaciones de neuronas GABAérgicas *REM-on* y *REM-off* localizadas en el tegmento mesopontino. Gracias al uso de trazadores anterogrados se identificaron regiones *REM-off* (inhibidoras de MOR) localizadas en la parte ventrolateral de la sustancia gris periacueductal y en el TLD, así como regiones *REM-on* (promotoras de MOR)

situadas en el núcleo sublaterodorsal y en la región precoeruleus. Aunque en este modelo las neuronas colinérgicas del TPP y TLD y las monoaminérgicas del LC y los núcleos del rafe no son los elementos centrales, aun conservan un importante papel modulador tanto en la generación como inhibición del MOR respectivamente (Lu et al., 2006). En general, este modelo plantea que durante la vigilia las neuronas orexinérgicas del HL están activas y pueden excitar regiones *REM-off* (GABA, NA, 5-HT) impidiendo así la aparición de MOR. Durante el SOL, al estar activas regiones GABAérgicas como el APVL se permite la inhibición de las regiones *REM-off*, al estar inactivas se libera la inhibición de las regiones *REM-on* (GABA, ACh) y de esta forma se permitiría la generación de un episodio de MOR (figura 3.2.B).

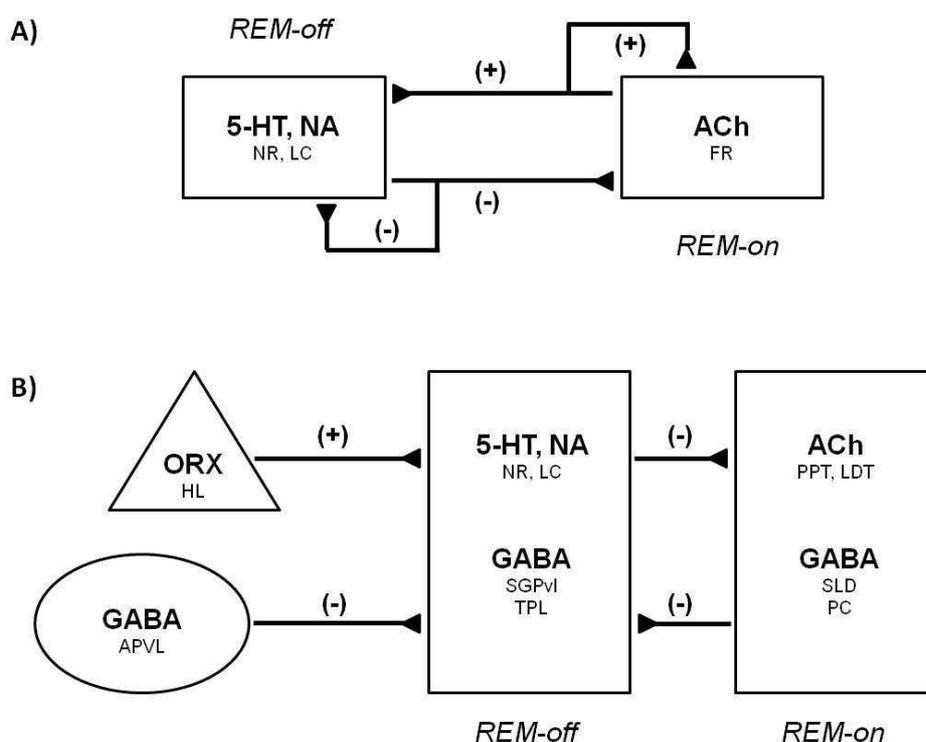


Figura 3.2. Principales modelos para la regulación del MOR. **A)** Modelo propuesto por Hobson y cols. (1975), donde la generación del MOR se basa únicamente en la interacción recíproca autorregulatoria entre grupos neuronales colinérgicos (*REM-on*) y monoaminérgicos (*REM-off*). **B)** Modelo propuesto por Lu y cols. (2006), las regiones *REM-off* fueron identificadas por la convergencia de entradas desde las neuronas orexinérgicas del HL y GABAérgicas del APVL. Las neuronas *REM-off* tienen una interacción inhibitoria mutua con neuronas *REM-on*, es decir que cuando se inactivan las regiones *REM-off* se libera la inhibición de los grupos *REM-on* y de esta forma se genera un episodio de MOR. NR: núcleos del rafe, LC: locus coeruleus, FR: formación reticular, HL: hipotálamo lateral, APVL: área preóptica ventrolateral, SGPVl: porción ventrolateral de la sustancia gris periacueductal, TPL: tegmento pontino lateral, PPT: núcleo tegmental pedúnculo pontino, LDT: núcleo tegmental laterodorsal, SLD: núcleo sublaterodorsal, PC: núcleo precoeruleus (tomada de Franco-Pérez et al., 2012).

Estudios de sección realizados por Jouvet y colaboradores demostraron que el tronco del encéfalo contiene la maquinaria neuronal principal del sueño MOR.

Se debe mencionar que también el glutamato, la glicina y el GABA participan en la generación y regulación del ciclo sueño-vigilia.

En conclusión, básicamente, en el hipotálamo y tronco del encéfalo existen múltiples sistemas neuronales (NA, 5-HT, histamina y orexinas) que se activan para promover y mantener la vigilia. La actividad de estos sistemas promotores de vigilia es regulada por poblaciones de neuronas promotoras de sueño (GABA) localizadas en el hipotálamo y que activamente participan en la iniciación del SOL. A su vez, existe evidencia que indica que ciertos núcleos pontinos (GABA, ACh) interactúan recíprocamente promoviendo el MOR. Así, podemos decir que las inhibiciones mutuas entre los diferentes sistemas promotores de vigilia y de sueño SOL y MOR son necesarias para regular el ciclo sueño-vigilia. Finalmente, el sueño parece ser un fenómeno controlado principalmente por redes neuronales centrales.

4. EL NERVIOS VAGO

En los últimos años se ha dedicado un gran esfuerzo para determinar los detalles fisiológicos del control autónomo de la función visceral. Con la introducción de nuevas técnicas y sofisticados estudios morfológicos e inmunohistoquímicos ha sido posible determinar con exactitud muchas de las vías anatómicas, eventos fisiológicos y neuroquímicos que tienen lugar en el sistema nervioso parasimpático y en particular en el llamado “complejo dorsal del vago” (CDV), constituido por el NTS, el núcleo ambiguo (NAMB), el núcleo motor dorsal del vago (NMDV) y el área postrema; que desempeñan un importante papel en la integración de numerosas funciones autónomas y viscerales.

4.1. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA

El NV, décimo par craneal o neumogástrico es el más largo de los nervios craneales. Su nombre se deriva de la raíz latina "errante", haciendo referencia a su largo recorrido desde el tronco cerebral, a través de la región cervical, tórax y abdomen. Es un nervio mixto, es decir, de tipo motor y sensorial; constituido por fibras aferentes y eferentes viscerales generales y especiales. La mayoría de sus fibras son desmielinizadas del tipo **C** con velocidades de conducción de al menos 1 m/s, además de fibras **B** cortas y fibras **A** largas, estas últimas mielinizadas (Woodbury y Woodbury, 1990). Cuenta con tres núcleos: 1), el NAMB localizado en la profundidad de la formación reticular del bulbo raquídeo y constituido por una columna fusiforme de neuronas multipolares medianas; 2) el NMDV, ubicado en su porción superior (rostral) cerca del piso del IV ventrículo, mientras que la inferior (caudal), lateral al conducto endodimario y dorsal al núcleo del hipogloso; y 3) la parte inferior del tracto solitario.

4.1.1. FIBRAS EFERENTES

Las fibras eferentes inervan el músculo estriado de la laringe y el fórnix, y proporciona inervaciones parasimpáticas al corazón, los pulmones, el tracto intestinal y otros órganos viscerales del abdomen (Brodal, 1981). Las neuronas eferentes especiales inervan los músculos de la laringe y la faringe, que tienen localizado su soma en el NAMB. En el lado derecho, el nervio se enlaza a la arteria subclavia y en el lado izquierdo alrededor del arco aórtico. Las

Referencias vagales se originan en las neuronas localizadas en el NMDV y NAMB. Estas referencias hacen sinapsis en neuronas localizadas en los ganglios parasimpáticos, que se hallan cerca de los órganos diana. De esta forma, inerva los músculos estriados de la faringe y laringe, así como la mayoría de las vísceras tóraco-abdominales (Henry, 2002).

4.1.2. FIBRAS AFERENTES

El NV vago se considera un nervio parasimpático, y se compone de aproximadamente un 80% de fibras sensoriales aferentes (Foley y Dubois, 1937). Las aferentes del NV son principalmente de tipo visceral y se originan de receptores en los pulmones, la aorta, el corazón, el esófago, el tracto gastrointestinal y los quimiorreceptores de la aorta (Paintal, 1973). Además existe un pequeño componente aferente somático sensorial mielinizado que envía información sensorial de la concha del oído (Brodal, 1981).

Por lo tanto, las referencias vagales llevan la sensación visceral de la faringe, laringe, tráquea y órganos tóraco-abdominales, sensación somática de una pequeña parte de la piel del oído externo, y del gusto (receptores en la periepiglotis de la faringe) (Henry, 2003). La activación de estas fibras produce constricción bronquial, incremento en las secreciones pulmonares, lentificación de la tasa cardíaca, incremento en la secreción gastrointestinal y pancreática, incremento en la peristalsis y diversos efectos sobre el esfínter gastrointestinal proximal a la flexura esplénica.

La mayoría de las aferentes que median reflejos son neuronas mielinizadas con velocidades de conducción mayores a 15 m/s (Paintal, 1973). Estas fibras aferentes se originan primariamente de neuronas del ganglio nodoso y envían sus proyecciones comúnmente al NTS, pero también a la formación reticular medial de la médula espinal, al NMDV, el área postrema y el núcleo cuneatus (Rhoton et al., 1966; Crill y Reis, 1968; Miura y Reis, 1972; Car et al., 1975; Beckstead y Norgren 1979; Kalia y Mesulam 1980; Cechetto, 1987). En cuanto a las aferentes desmielinizadas constituyen del 65 al 80% de las fibras del nervio en el gato (Foley y DuBois, 1937).

La información visceral de las aferentes del NV ingresa al SNC a través del NTS, de ahí se distribuye ampliamente a muchas regiones cerebrales, incluyendo el hipotálamo, la amígdala del lóbulo temporal (AMG), el NDR, el NAMB, el NMDV, el nPBL y el tálamo que proyecta a su vez hacia la corteza

insular (Rhoton et al., 1966; Morest, 1967; Aghajanian y Wang, 1977; Ricardo y Ko, 1978, Saper y Loewy, 1980; Saper, 1982; Cechetto, 1987). Estas vías son consideradas como mediadoras de reflejos importantes para la función visceral como lo son toser, vomitar, deglutir y los reflejos barorreceptivos. Las proyecciones al hipotálamo son importantes en las conductas de alimentación y saciedad, así como en la presión sanguínea y la conservación de la homeostasis. Las proyecciones al tálamo continúan hacia la corteza insular y aparentemente son el sustrato de la conciencia de la función visceral.

El NMDV, el NTS y el NAMB del complejo vagal dorsal contienen péptidos opiodes endógenos (met y leu encefalinas), los cuales se ha descrito juegan un papel importante en las funciones selectivas motoras y viscerales (gastrointestinales, cardiovasculares y respiratorios) (Milner et al., 1995).

4.2. EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE AFERENTES VAGALES

Debido a la amplia distribución anatómica del NV, se ha propuesto que la estimulación eléctrica del nervio vago es capaz de modificar la actividad neuronal de amplias regiones del cerebro.

El uso de la ENV ha permitido grandes avances, uno de ellos fue en 1936, cuando el farmacólogo austriaco Otto Loewi y el fisiólogo inglés Henry Dale compartían el premio nobel de fisiología y medicina por sus investigaciones y descubrimientos acerca de la transmisión química de los impulsos nerviosos. Loewi fue acreedor de tal reconocimiento gracias a sus experimentos de perfusión cruzada de corazón, que consistía en estimular el NV de una rana y después transferir la sangre de ésta a un segundo animal. Si descendía -como se demostró afirmativamente- el ritmo cardiaco de la rana receptora entonces el efecto debía de estar mediado por una sustancia química que liberaba el NV estimulado (Loewi, 1921). Loewi llamó *vagustoff* a la sustancia química que aminora el ritmo del corazón; más tarde se demostró que se trataba de la Ach (que Dale ya había aislado en 1914).

Por otra parte, el neurólogo estadounidense James L. Corning, a partir de 1880, desarrolló un método de estimulación mecánica del NV para el tratamiento de crisis en humanos (Corning, 1882a), que consistía en una horquilla carotídea que producía una compresión temporal de la carótida que

era capaz de abolir las crisis. Los efectos secundarios soportados incluían palidez facial, midriasis, ptosis, somnolencia, mareos, confusión y síncope (Corning, 1888).

Posteriormente se diseñó una correa ajustable para producir una compresión más prolongada, durante horas o incluso días, como tratamiento profiláctico de la epilepsia (Corning, 1882b). A pesar de que las observaciones de Corning sugerían un descenso en la frecuencia de crisis, no llegó a publicar el número de pacientes tratados, ni el grado de respuesta alcanzado. Unos años después (1883), combinó los instrumentos de compresión carotídea con otros dispositivos para disminuir la frecuencia cardíaca y por tanto el flujo cerebral; y en 1884 utilizó la compresión carotídea conjuntamente con la estimulación eléctrica transcutánea del NV y simpático cervical (Corning, 1887). Las fibras vagales enlentecían el ritmo cardíaco y el sistema simpático ejercía vasoconstricción periférica, limitando de esta forma el flujo sanguíneo al cerebro.

A principios del siglo XX se desarrollaron nuevos experimentos en animales para valorar la posible utilidad de la estimulación vagal en la epilepsia. En 1938, Bailey y Bremen reportaron que la ENV provoca cambios en el EEG. En 1951, Dell y Olson estudiaron la ruta tomada por la influencia ascendente desde el NTS. Ellos observaron que la ENV a nivel cervical produce potenciales evocados en la corteza cerebral (Dell y Olson, 1951a; O'Brien et al., 1971; Car et al., 1975), el hipocampo (Serkov y Bratus, 1970), el tálamo (Dell y Olson, 1951a, b; Car et al., 1975), y el cerebelo (Dell y Olson, 1951a; Hennemann y Rubia, 1978).

No fue hasta la década de 1950, cuando se demostró por primera vez el efecto anticonvulsivo del NV, lo cual fue logrado por Zanchetti, Wang y Moruzzi, quienes reportaron que la ENV produce un robusto efecto antiepiléptico sobre las crisis convulsivas parciales producidas por la aplicación de estriquina en la corteza (Zanchetti, et. al., 1952). Esto fue confirmado una década más tarde en condiciones experimentales análogas por Stoica y Tudor (1967).

En la década de 1960, Chase y cols. (1966, 1967) reportaron que la ENV puede provocar tanto activación como desactivación del EEG, dependiendo de los parámetros de estimulación (frecuencia, intensidad y duración).

Otras investigaciones dieron inicio en la década de 1990 y también reportaron efectos positivos de la ENV sobre las crisis inducidas experimentalmente en animales (Woodbury y Woodbury, 1990; Zabara, 1992; McLachlan, 1993; Takaya et al, 1996; Krahl et al, 1998; Groves y Brown, 2005; Groves et al, 2005; Dedeurwaerdere et al, 2006; Rijkers et al, 2010; Treiman, 2010). Para una revisión reciente ver Krahl y Clark, 2012.

La utilidad de la estimulación vagal en la epilepsia vivió un nuevo impulso en la década de los ochenta, gracias a Zabara (1985), que, retomando los datos de los estudios experimentales realizados en animales, postuló que la desincronización cortical inducida por la estimulación vagal podría tener un efecto antiepiléptico tras estudiar los efectos de la estimulación vagal en crisis epilépticas inducidas químicamente en perros. Esto condujo a la realización del primer implante en seres humanos en 1988 por Penry y Dean (1990), con resultados favorables. Posteriormente, estudios clínicos realizados en Estados Unidos y en Europa confirmaron la eficacia de la estimulación vagal en pacientes con epilepsia refractaria.

Desde entonces, la ENV ha sido empleada en más de 65,000 pacientes epilépticos farmacorresistentes. Posteriormente, estudios de seguimiento en pacientes tratados con la ENV demostraron, además del efecto antiepiléptico, que éstos presentaban importantes mejorías en su estado de ánimo. Esto dio inicio a nuevas investigaciones, encaminadas a determinar el efecto de la ENV sobre la depresión, tanto en humanos como en animales; los cuales han aportado datos muy satisfactorios y alentadores.

Por sus efectos benéficos, desde hace algunos años, la ENV ha sido aprobada como un tratamiento adjunto para el tratamiento de la epilepsia y la depresión en humanos (Manta, et al 2009; Manta, et al 2012); pero también se ha estudiado su efecto sobre otros padecimientos como la migraña, ansiedad, desordenes alimenticios y el Alzheimer.

Desde el primer implante del NV en humanos (1988), se han logrado varios avances así como importantes resultados experimentales que ponen en evidencia que el efecto de este tipo de estimulación se debe a la acción que ejerce la ENV sobre la función cerebral, pero aún quedan muchas preguntas por responder.

Estudios clínicos y básicos realizados con técnicas de neuroimagen funcional como la tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía por emisión de fotón simple computarizada (SPECT), resonancia magnética funcional (fRMF) y resonancia magnética espectroscópica (RMS)³ han permitido identificar, localizar y delimitar la naturaleza de algunas de regiones del cerebro responsables de la eficiencia clínica de la ENV en varios padecimientos neuropsiquiátricos. Muchos de estos estudios concuerdan que la ENV influye sobre áreas límbicas y corticales que pueden dar lugar a los efectos benéficos del tratamiento de la ENV en pacientes epilépticos y deprimidos (Bertram et al., 2001; Chae et al., 2003; Henry et al., 1999; Vonck et al., 2008; Zhang y Bertram, 2002).

En 1996 Ko y cols., a través de imágenes obtenidas por medio de PET, reportaron que al estimular el NV izquierdo se produce una importante activación neuronal del cerebelo, giro temporal medio, tálamo y putamen., Henry y cols. (1998), utilizando la misma técnica, obtuvieron resultados más precisos; mostraron que tanto frecuencias rápidas y lentas de estimulación, activan la parte inferior de los hemisferios, el giro post-central derecho, la parte rostral y dorso-central de la medula, además de la activación bilateral del hipotálamo, el tálamo y las cortezas insulares; por otra parte, disminuyen en su actividad de modo bilateral el hipocampo, la AMG y el giro del cíngulo posterior. Por su parte, un año después, Henry y cols. (1999), reportaron el efecto agudo de la ENV; ellos describieron un aumento bilateral de flujo sanguíneo cerebral (FSC) del tálamo correlacionado con una disminución en la frecuencia de crisis en pacientes con tres meses de tratamiento con ENV. Por su parte Vonck y cols. (2008), reportaron cambios significativos del FSC en el tálamo, el hipocampo y el giro para hipocampal en sujetos tratados crónica y agudamente con la ENV.

Muchos sistemas de neurotransmisión han sido implicados en el mecanismo de acción anticonvulsivo de la ENV.

El sistema de señalización de NA es afectado desde la expresión de *c-fos* en el LC (Naritoku et al., 1995), así como el aumento del patrón de disparo de las neuronas noradrenérgicas de este núcleo (Dorr y Debonel, 2006; Groves

³ Las abreviaturas que definen las técnicas de neuroimagen corresponden a sus siglas en inglés.

et al., 2005; Krahl et al., 1994; 1998). Además, se ha demostrado que La ENV induce un aumento en los niveles de NA en el hipocampo (Meurs et al., 2008; Roosevelt et al., 2006; la AMG (Hassert et al., 2004) y la corteza (Roosevelt et al., 2006).

La transmisión serotoninérgica también puede jugar un papel importante, ya que el patrón de disparo de neuronas del NRD aumenta significativamente después de la estimulación crónica del NV (Dorr y Debonel, 2006; Manta et al., 2007; 2009a; 2009b). Este efecto es dependiente de NA ya que la lesión selectiva del LC impide dicho efecto (Manta et al., 2009a; 2009b).

En cuanto al glutamato y el GABA, un estudio en ratas mostró que el aumento de la neurotransmisión GABAérgica o la reducción de la de tipo glutamatérgica dentro del NTS provoca animales menos susceptibles a presentar crisis (Walter, 1999). Sin embargo, los niveles de GABA en hipocampo no se modificaron después de la ENV (Meurs et al., 2008).

Se ha demostrado que el NV cuenta con múltiples sistemas de transmisión (Leslie, 1985). La ENV influye sobre la liberación de ciertos neuropéptidos, entre ellos: la Sustancia P, la CCK, la neurotensina (NT), el CGRP (del inglés *calcitonin gene-related peptide*) y la SOM que modulan la información visceral mediada por glutamato que va del nPBL al tálamo ventrobasal. Se encontró que la ENV da lugar a un aumento significativo de sustancia P y CGRP, así como una disminución de SOM, CCK y NT en el nPBL.

Lesionando el ganglio nodoso se observó una disminución en el "binding" (unión de un ligando a su receptor) de glutamato (Lewis et al., 1988), CCK (Ladenheim et al., 1988) y NT (Kessler y Beaudet, 1989). Aunado a esto, se ha demostrado el contenido de receptores neuropeptídicos, incluida la angiotensina II (Diz et al., 1987).

Existe un creciente interés en la neuromodulación para la depresión y la epilepsia. Además de la ENV han surgido otros tratamientos como la estimulación magnética transcraneal repetitiva conocida como EMTr, y la estimulación cerebral profunda o DBS por sus siglas en inglés. En los últimos años se ha empezado a promover el uso de la estimulación del nervio trigémino (quinto nervio craneal) como una terapia de neuromodulación emergente para

el tratamiento de la epilepsia y la depresión, que ha sido aprobada en Europa, ver De Giorgio, 2011.

Clínicamente, pacientes tratados con ENV pueden presentar algunos efectos adversos, sin embargo, estos son poco severos o moderados y casi siempre desaparecen cuando la intensidad de la estimulación es reajustada. No se han detectado efectos severos de tipo cardiovascular, cardiacos, pulmonares o gastrointestinales (Murphy, 1998; Schachter y Saper, 1998; Setty et al., 1998; Upton 1991) como se pensaría; en algunos casos, los pacientes reportan sensaciones de relajación durante la estimulación (Upton et al., 1991).

4.3. ESTIMULACIÓN VAGAL, EEG Y SUEÑO

Numerosos estudios han demostrado que los impulsos de nervios periféricos y de la médula espinal pueden modificar la actividad eléctrica cerebral, incrementando la sincronización EEG y produciendo SOL, como ocurre después de la estimulación de los nervios cutáneos (Pompeiano y Swett, 1962), después de la estimulación visual repetitiva y difusa o la iluminación constante de la retina (Mancia et al., 1959), así como las descargas aferentes del NV (Puizillout et al, 1973; Valdés-Cruz et al, 2002, 2008).

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

Los efectos de la ENV dependen de los parámetros de estimulación utilizados (frecuencia, intensidad y duración), debido a las características de las fibras estimuladas. Con altas frecuencias de estimulación (24-50 Hz) se produce actividad EEG rápida en la corteza órbita frontal, la cual fue inicialmente atribuida a la hipotensión producida por la estimulación (Bailey y Bremer, 1938). Experimentos subsecuentes bajo la preparación *encéphale isolé* en gatos, con la cual no se produce hipotensión, se describió que la ENV (50 Hz, 0.1-2 voltios) producía desincronización EEG, además de bloquear la aparición de husos de sueño durante el SOL (Zanchetti et al., 1952).

Posteriormente, Chase y colaboradores (Chase et al., 1966; Chase y Nakamura, 1968; Chase et al., 1967) llevaron a cabo experimentos definitivos que demostraron que los cambios observados en el EEG están asociados con la activación de los distintos tipos de fibras específicas del vago. En gatos, frecuencias de 70 Hz con intensidades mayores de 3 voltios producen desincronización del EEG al igual que frecuencias 20 a 50 Hz y 10 voltios; por otra parte, utilizando los mismos 70 Hz pero con intensidades menores de 3 voltios, donde los parámetros de estimulación solamente son efectivos para activar las fibras mielinizadas, la estimulación produce sincronización EEG. Las intensidades y frecuencias de estimulación que producen desincronización son sólo aquellas que pueden activar las fibras que conducen de 1 a 15 m/s (Chase y Nakamura, 1968). Cabe señalar que, la mayoría de estos trabajos, han sido llevados a cabo en preparaciones agudas, es decir con animales anestesiados o en preparaciones *encéphale isolé*.

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

Analizando la expresión de la proteína nuclear *c-fos*, en ratas con ENV se encontró una alta actividad neuronal en el cíngulo, el núcleo hipotálmico ventromedial, el núcleo arcuato, el NMDV, el LC, el núcleo A5 (también llamado núcleo subcoeruleus) y en el núcleo coclear (Naritoku et al., 1995). También se ha descrito un incremento del fluido sanguíneo del cíngulo y el tálamo, además de la disminución de la 5-HT durante la ocurrencia espontánea de sueño durante ENV (Garnett et al., 1992). Asimismo, en el gato la ENV aumenta el disparo celular en el núcleo ventro-posteromedial del tálamo contralateral (Saleh y Cechetto, 1993) y puede afectar el sistema de transmisión monoaminérgico.

Dado el efecto que produce la ENV sobre la actividad cerebral, también ha sido asociada con la inducción de sueño en el gato (Chase et al., 1967; Dell y Olson, 1951 b; Stoica y Tudor, 1967) por lo que la ciclicidad del sueño también puede verse afectada. La ENV puede producir tanto SOL como MOR (Puizillout, 1986). La estimulación eléctrica a nivel del bulbo raquídeo (30-50 Hz, 1-2 voltios) en la región de el NTS produce SOL (Puizillout y Foutz, 1976;),

al igual que la aplicación de corriente directa al NV (15-40 seg.), posterior a una desincronización EEG (Penaloza-Rojas, 1964). La destrucción bilateral o eliminación funcional de la región del NTS es seguida de un estado de insomnio (Bremer, 1997; de Andrés, 1998).

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

En nuestro laboratorio (Fernández-Guardiola et al., 1998, 1999), reportamos que la ENV induce cambios en el ciclo sueño-vigilia en gatos sometidos al *kindling* eléctrico amigdalino. Posteriormente describimos que la ENV produce un aumento en el tiempo total y el número de fases del sueño MOR. Además la ENV aumentó la densidad de los potenciales PGO del mismo estadio de sueño y se presentó ocasionalmente el reflejo narcoléptico (Valdés-Cruz et al., 2002). Por último, usando métodos de análisis espectral y de representación tridimensional desarrollados en nuestro laboratorio (Fernández-Mas et al., 1998), reportamos un aumento en la potencia durante el SOL en las bandas de las ondas delta (1-4 Hz) y los husos del sueño (8-14 Hz) (Valdés-Cruz et al., 2008). En estos trabajos se destacó la importancia de realizar registros de 23 horas, ya que se observaron cambios de larga duración sobre el sueño.

Estos estudios proveen evidencias de que la ENV tiene profundos efectos sobre el funcionamiento del SNC, de ahí los cambios en el EEG y los estados del sueño en animales experimentales. Dichos efectos podrían ser mediados por la activación aferente del NTS y diversos centros de la formación reticular del tronco del encéfalo (Rutecki, 1990).

5. EL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO

Durante mucho tiempo, el NTS fue considerado solamente como un núcleo de relevo, con un mínimo de procesamiento sináptico; pero en los últimos años se ha demostrado que este núcleo contiene elementos que forman parte de los circuitos neuronales responsables del control de funciones autónomas y viscerales como la deglución, la respiración, el control cardiovascular; así como en otras funciones fisiológicas más integrales como los mecanismos de sincronización y desincronización EEG cortical o el sueño (Lawrence y Jarrot, 1996; Loewy, 1990; Magnes et al., 1961; Millfin y Felder, 1990, Valdés-Cruz et al., 2002, 2008).

5.1. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA

Desde los trabajos de Ramón y Cajal (1911), se sabe que el NTS está constituido por una columna celular organizada longitudinalmente dentro el bulbo raquídeo, donde recibe la mayor cantidad de información aferente visceral y gustativa a través de los nervios vago, glossofaríngeo, facial y trigémino (Allen, 1923; Torvik, 1956).

En cuanto a sus proyecciones eferentes proyectan a los núcleos motores de los nervios craneales que inervan la cara y la lengua, además de una serie de núcleos de del tronco del encéfalo y a un número considerable de grupos celulares del hipotálamo y la región límbica del telencéfalo donde se integran respuestas autónomas, neuroendocrinas y comportamentales que permiten la homeostasis del organismo (Sawchenko, 1983).

Por otra parte, en la literatura existe una gran variabilidad para describir la distribución de las estructuras subnucleares que constituyen al NTS. Con base a datos citoarquitectónicos, Taber (1961) describió cinco subnúcleos del NTS en el gato. Posteriormente, Loewy y Burton (1978) hicieron una nueva subdivisión, basados en la distribución de los somas de neuronas de proyección eferente dentro del núcleo. Mientras que en 1980, Kalia y Mesulam describieron ocho subnúcleos, en los que incluyeron al NMDV y el área postrema, que en su conjunto constituyen el CDV (figura 5.1.).

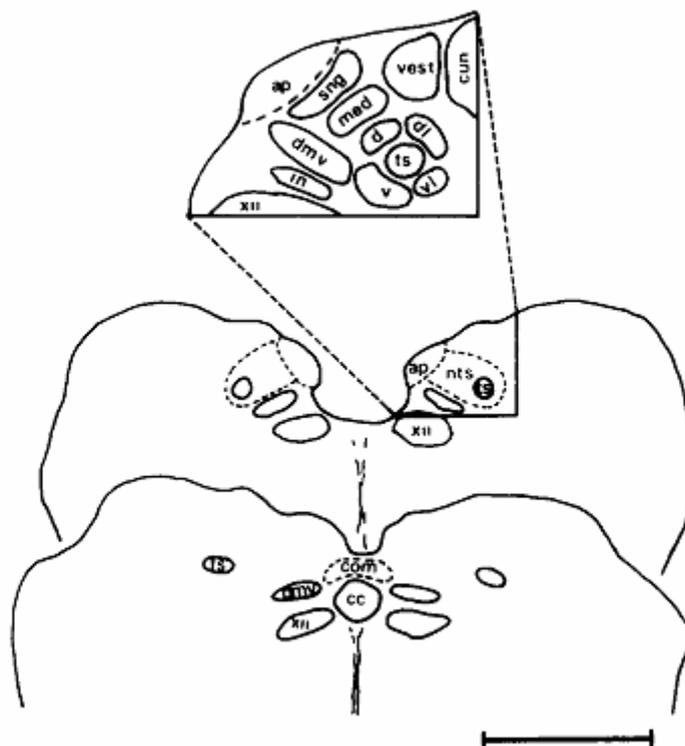


Figura 5.1. Vista esquemática de la porción dorsal de dos secciones transversales del bulbo raquídeo de gato. La parte inferior del dibujo es de un nivel caudal al óbex, mientras que la parte superior es de un nivel más rostral. La sección ampliada indica la posición aproximada de los principales subnúcleos del NTS. (ap) área postrema; (cc) canal central; (corn) núcleo comisural; (cun) núcleo cuneiforme accesorio; (d) subnúcleo dorsal del NTS; (dl) subnúcleo dorsolateral; (DMV) núcleo motor dorsal del vago; (in) núcleo intercalatus; (med) subnúcleo medial; nts = núcleo del tracto solitario, (sng) subnúcleo gelatinoso; (ts) fascículo solitario; (v) subnúcleo ventral; (vest) complejo vestibular; (vl) subnúcleo ventrolateral; (xii) núcleo hipoglosio. Barra de escala = 2 mm (Figura tomada de Leslie, 1985).

Con el uso de la técnica de “transporte anterógrado de peroxidasa de rábano” se ha demostrado que la distribución topográfica de las aferentes vagales es mucho más extensa (Leslie, 1985). Por ejemplo, las aferentes gástricas terminan en el subnúcleo gelatinoso (Gwyn y cols., 1979; Kalia y Mesulam, 1980), mientras que las aferentes originadas en estructuras respiratorias terminan en las región dorsolateral y ventrolateral, y las fibras cardiacas forman un campo terminal en la región dorsolateral (Kalia y Mesulam, 1980). La información de baroreceptores, derivada del seno carotídeo y los nervios depresores aórticos terminan principalmente en la subdivisión dorsal y medial del núcleo (Davies y Kalia, 1981; Wallach y Loewy, 1980).

El NTS es también el sitio de terminación de la mayoría de fibras sensoriales de los nervios facial, glossofaríngeo y recibe algunas fibras sensoriales del nervio trigémino (Beckstead y Norgren, 1979). La parte rostral del NTS se encarga en gran medida de la información gustativa (Halpern y Nelson, 1985) que se transmite principalmente por los nervios facial y glossofaríngeo. También se ha demostrado una importante entrada de información desde la corteza (Van der Kooy y cols., 1982).

El NTS es capaz de influir a diferentes niveles del control autónomo y neuroendocrino, ya que envía proyecciones eferentes a muchas estructuras del sistema nervioso central que participan en estos procesos (Sawchenko, 1983). Las principales proyecciones eferentes del NTS son: el núcleo del lecho de la estría terminalis (Ricardo y Koh, 1978), el AMGc (Ricardo y Koh, 1978), el NMDV (Morest 1967; Norgren, 1978; Ricardo y Koh, 1978), el núcleo facial (Norgren, 1978), el núcleo hipogloso (Norgren, 1978), los núcleos *arcuato*, dorsomedial y paraventricular del hipotálamo (Ricardo y Koh, 1978), la columna intermediolateral de la médula espinal (Loewy y Burton, 1978), el núcleo cuneatus lateral (Loewy y Burton, 1978), el núcleo olivar accesorio medial (Loewy y Burton 1978), el núcleo preóptico mediano (que se encarga del beber y no confundir con el núcleo preóptico medial) (Saper et al., 1983), el NAMB (Loewy y Burton, 1978, Ricardo y Koh, 1978), la sustancia gris ventral de la médula espinal cervical y torácica; (Loewy y Burton, 1978), el núcleo periventricular del tálamo (Beckstead et al., 1980; Ricardo y Koh, 1978), el núcleo motor del trigémino (Norgren, 1978) y el núcleo reticular ventrolateral (Loewy y Burton, 1978).

Esta lista de estructuras no es exhaustiva, ya que también se ha reportado que el NTS proyecta a algunos grupos celulares del tronco del encéfalo. El más conocido de ellos es el nPBL que recibe una entrada masiva de información del NTS, que se organiza topográficamente: la parte medial del núcleo recibe información principalmente de la parte rostral (gustativo) del NTS y la parte lateral de la región caudal (visceroceptiva) del núcleo (Loewy y Burton, 1978; Norgren, 1978; Norgren y Leonard, 1973; Ricardo y Koh, 1978).

A su vez, el nPBL envía proyecciones ascendentes hacia el hipotálamo (el área lateral, núcleos paraventricular, preóptico mediano, dorsomedial y ventromedial), el tálamo (núcleos paraventricular, ventromedial basal e

intralaminares) y hasta el AMGc, el núcleo del lecho de la estría terminalis, la sustancia innominada, la zona incerta y la corteza cerebral. También posee eferencias descendentes hacia la porción rostral y lateral del bulbo raquídeo, el NTS y la médula espinal (Fulwiler y Saper, 1984; Bystrzycka y Nail, 1985).

Otros de los destinatarios directos de las proyecciones eferentes del NTS son los grupos catecolaminérgicos A1 (LC y CDV) y A5 (núcleos motores del vago) de Dahlström y Fuxe (Dahlström y Fuxe, 1964), que han sido implicados en el control cardiovascular central (Loewy y McKellar, 1950).

Otra categoría de estructuras que reciben proyecciones directas desde el NTS, consiste de diversos núcleos del hipotálamo y zonas adyacentes de la región límbica que pueden ser consideradas generalmente como centros de integración de respuestas conductuales, autónomas, neuroendocrinas encargadas de mantener la homeostasis. En el hipotálamo, estas incluyen: el núcleo paraventricular, el HL, el núcleo arcuato y el APO medial. En cuanto a las proyecciones hacia el sistema límbico, como el núcleo del lecho de la cama y el AMGc (Ricardo y Koh, 1978) se interconectan con muchas otras áreas, como el hipotálamo, grupos celulares relacionados con funciones autónomas del tronco y otras partes de la región límbica del telencéfalo (Krettek y Price, 1978; Swanson y Hartman, 1975).

5.2. NEUROQUÍMICA DEL NTS

La investigación en neuroquímica de los últimos años ha proporcionado mucha información sobre los neurotransmisores y neuropéptidos neuroactivos que se sintetizan dentro del NTS y en general dentro del CDV.

Las principales catecolaminas (CA) usadas por el sistema nervioso (dopamina, NA y adrenalina), han sido íntimamente asociadas con el NTS desde los trabajos de Dahlström y Fuxe (1964), quienes describieron un grupo de neuronas CA en la parte dorsal del bulbo raquídeo al cual denominaron grupo celular "A2", que corresponde con la posición del NTS. Posteriormente, Hökfelt y cols. (1974), describieron otro grupo de células localizado ligeramente dorsal al grupo A2, al cual llamaron grupo "C2". Sin embargo, debido a las limitaciones metodológicas de su época, fue imposible distinguir que tipos de CA se encuentran presentes en dichos grupos. Afortunadamente, con el avance de nuevas técnicas, se han logrado establecer nuevos hallazgos en cuanto a lo último.

Armstrong y cols. (1981; 1982c) indican que el CDV contiene muchos cuerpos celulares que contienen dopamina, mientras que en el grupo C2 se localizan principalmente células adrenérgicas; además de que en regiones subyacentes al NTS, se localizan múltiples somas reactivos para *tirosina hidroxilasa* y *dopamina-beta-hidroxilasa*, lo cual sugiere que contienen NA.

Se ha documentado que la amina biogénica 5-HT está presente en el CDV. En particular, Maley y Elde (1982, 1982b), describieron la existencia de neuronas inmunoreactivas para 5-HT dentro el NTS del gato; así como la distribución de una alta densidad de axones mielinizados, varicosidades axonales y terminales sinápticas dentro de la subdivisión parvocelular (subnúcleo gelatinoso) del núcleo.

La 5-HT ha sido implicada en muchos mecanismos fisiológicos, por ejemplo, la inyección de 5-HT o alguno de sus análogos dentro el NTS inducen o aumentan la actividad EEG y afectan la sincronización EEG (Key y Metha, 1977), pero su papel en el CDV sigue siendo oscuro (Osborne, 1982).

La Ach se asocia con el sistema nervioso parasimpático ya que es el principal neurotransmisor de las neuronas pre y postganglionares de ese sistema. Por lo tanto no es de sorprender que los mecanismos colinérgicos se encuentren asociados a los elementos motores y sensoriales del NV y por ende con los del CDV. Gwyn y Wolstencroft (1968) y Palkovits y Jacobovits (1974) demostraron la presencia de esta enzima dentro del NTS, especialmente en la región gelatinosa y comisural.

En cuanto a aminoácidos se refiere, se han reportado niveles moderadamente altos de GABA dentro el NTS y el NMDV de la rata (Siemers y cols., 1982). La distribución de esta sustancia es particularmente alta en la subdivisión dorsal y medial del NTS del gato y que la sección de los nervios craneales IX y X causan una disminución en los niveles de GABA en el NTS y el NMDV (Dietrich y cols. 1982). También se ha demostrado que existen mecanismos de captura de alta afinidad dentro del NTS y el NMDV.

El glutamato, también ha sido reconocido en altas cantidades en el NTS y el NMDV de la rata (Siemers y cols., 1982). Así como el GABA, los niveles de glutamato son altos en la región dorsal y medial del NTS del gato, pero también en la región comisural (Dietrich y cols., 1982). La sección de los nervios IX y X

produce una disminución bilateral en los niveles de glutamato en el NTS y NMDV.

Siemers y cols. (1982), también demostraron la existencia de otros aminoácidos como la glicina y el aspartato dentro el CDV.

Diversos neuropéptidos se han identificado, distribuidos ampliamente, en ganglios autónomos, sistema entérico y fibras periféricas. Entre los más conocidos cabe citar: encefalina/endorfina, VIP, sustancia P, CGRP, neuropéptido Y (NPY), SOM, bombesina, galanina, NT, angiotensina y colecistocinina/gastrina (CCK/G) (Burnstock y Hoyle, 1992). Se ha demostrado la coexistencia de neuropéptidos con transmisores clásicos en distintas neuronas autónomas; por ejemplo, las neuronas postganglionares simpáticas y parasimpáticas que contienen Ach y VIP, o neuronas adrenérgicas que contienen NA y NPY. El neurotransmisor clásico y el neuropéptido pueden coliberarse o liberarse separadamente bajo condiciones de excitación diferentes. Se postula que los neuropéptidos pueden actuar como transmisores por sí mismos o bien como neuromoduladores, alterando la acción de transmisores clásicos.

5.3. EFECTO DE LA ENTS SOBRE EL EEG Y EL SUEÑO

Además de regular funciones viscerales, el NTS también es capaz de modificar la actividad eléctrica cerebral y los diferentes estados del ciclo sueño-vigilia. A partir de algunos estudios experimentales con lesión y estimulación se considera que la sincronización EEG y la influencia hipnogénica del tronco del encéfalo y del prosencéfalo rostral, se originan en la parte caudal del puente y el bulbo raquídeo, a nivel del NTS (Magnes et al, 1961; Berlucchi et al, 1964; Reinoso-Barbero y De Andrés, 1995).

Como se ha mencionado anteriormente, experimentos realizados con transacciones o lesiones por debajo del RPO indican que las estructuras generadoras del sueño se localizan en la parte más baja del tronco del encéfalo. El SOL con sincronización puede ser obtenido en gatos bajo condiciones crónicas por estimulación eléctrica de baja frecuencia de la formación reticular bulbar a nivel del NTS (Magnes, et al., 1961). También se ha demostrado que es posible producir efectos hipnogénicos e impulsos sincronizadores por medio de la estimulación de nervios periféricos, la médula espinal, el RCP y los núcleos profundos del cerebelo.

Se considera que el NTS en la región dorsal del bulbo raquídeo proporciona un vínculo entre la actividad visceral y los estados del sueño y la vigilia. Bioquímicamente, el NTS es una región bastante heterogénea, ya que recibe la mayoría de las fibras eferentes de los nervios craneanos VII, IX y X.

No solamente, la estimulación eléctrica de este núcleo produce sueño y sincronización, ya que estas respuestas también pueden ser obtenidas después de la administración local de varias sustancias, por ejemplo: 5-HT (Laguzzi et al., 1984), morfina, agonistas y opiáceos de receptores tipo mu o delta (Reinoso-Barbero y De Andrés, 1995) y glutamato (Golanov y Reis, 2001).

Estos últimos hallazgos indican que los efectos sobre el sueño y el EEG tienen lugar, a partir de la activación de las neuronas intrínsecas del NTS y no por las fibras de paso. Por otra parte, el registro de la actividad neuronal del NTS durante los diferentes estados del sueño, demostró que existe una población de neuronas dentro del núcleo que presentan una mayor frecuencia de disparos durante los periodos de SOL (Eguchi y Satoh, 1980). A pesar de que el NTS no proyecta directamente a la corteza cerebral (Saper, 1995), puede influir sobre ella por medio de sus proyecciones eferentes, ya que se ha demostrado que el NTS presenta una amplia distribución dentro de todo el sistema nervioso central, muchas de ellas íntimamente relacionadas el sueño y la sincronización cortical, como el LC, el NDR, el hipotálamo lateral, la AMG y los núcleos talámicos de la línea media.

El trabajo pionero de Magnes y cols. (1961), fue el primero en demostrar que la ENTS a baja frecuencia (1-16 Hz) produce sincronización cortical; mientras que frecuencias mayores de 30 Hz producen el efecto contrario, es decir desincronización.

Posteriormente, estudios con lesión (Bonvallet y cols, 1963), inactivación local (Berlucchi y cols, 1964; 1965) y registros de actividad neuronal, (Eguchi y Satoh 1980) confirman que el NTS provoca un efecto facilitador de la sincronización EEG. La destrucción bilateral o eliminación funcional de la región del NTS es seguida de un estado de insomnio (Bremer, 1997; de Andrés, 1998).

Por otra parte, existen algunas evidencias experimentales que sugieren que el NTS también es capaz de regular el sueño MOR. La microinfusión de

carbacol a nivel del NTS provoca un aumento MOR (Shiromani y Fishbein, 1986), que es bloqueado al aplicar antisuero de SOM en el mismo sitio (Danguir y Saint-Hilaire-Kafi, 1988). Por otra parte, el NTS puede ser el responsable de los efectos producidos por la ENV sobre el sueño, como es la inducción de sueño (SOL y MOR), entradas súbitas de vigilia a MOR (reflejo narcoleptico) y el aumento de la densidad de potenciales PGO (Puizillout, 1976; Puizillout y Foutz, 1976, 1977; Puizillout y cols., 1973, 1984; Fernández-Guardiola y cols, 1998; 1999; Valdés-Cruz et al., 2002, 2008). Sin embargo y a pesar de los profundos efectos de la ENTS sobre el SOL y MOR, se desconocen sus efectos sobre el ciclo sueño-vigilia y los mecanismos fisiológicos que la subyacen.

Por lo anterior, el propósito de este trabajo fue estudiar el efecto de la ENTS sobre la distribución temporal de las fases del ciclo sueño-vigilia en gatos no anestesiados con libertad de movimiento; y por otra parte, analizar los efectos de la ENV y ENTS sobre la actividad multiunitaria del circuito Vago-NTS-Parabraquial-Amígdala en gatos bajo condiciones agudas de experimentación.

6. OBJETIVOS

6.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las fibras aferentes del NV envían proyecciones a áreas bulbares, pontinas, del sistema límbico y del cerebro anterior encargadas de regular el ciclo sueño-vigilia en mamíferos; además son capaces de modificar la actividad EEG cortical. Sin embargo se desconocen los mecanismos fisiológicos y los efectos de la ENV y ENTS sobre los componentes EEG de regiones bulbo-pontinas y límbicas a corto y largo plazo en animales anestesiados, así como los cambios sobre la distribución temporal del ciclo sueño-vigilia en 23 horas de registro en gatos con libertad de movimiento.

6.2. HIPÓTESIS

1. La estimulación eléctrica del NV y del NTS modifican la actividad cerebral de estructuras bulbo-pontinas y del sistema límbico en gatos bajo condiciones agudas de experimentación.
2. La estimulación eléctrica del NTS provoca efectos conductuales de tipo vegetativo en gatos con libertad de movimiento.
3. La estimulación eléctrica del NTS favorecen la sincronización EEG en gatos con libertad de movimiento, lo cual favorece la instalación de las diferentes fases de sueño en registros de 23 horas.

6.3. OBJETIVOS

1. Describir los efectos que provoca la ENV y la ENTS sobre la actividad multiunitaria de estructuras bulbo-pontinas y del sistema límbico en gatos en condiciones agudas de experimentación.
 - 1.1. Analizar los efectos que provoca la ENV sobre la actividad multiunitaria del NTS, nPBL y el AMGc en gatos anestesiados.
 - 1.2. Analizar los efectos que provoca la ENTS sobre la actividad multiunitaria del nPBL y la AMGc en gatos bajo preparación aguda.
2. Describir los cambios conductuales de tipo vegetativo producidos por la ENTS en gatos con libertad de movimiento
 - 2.1. Describir los cambios conductuales de tipo vegetativo provocados por la ENTS en gatos con libertad de movimiento.

3. Establecer los efectos que provoca la ENTS sobre la actividad EEG cortical y subcortical en gatos con libertad de movimiento.

3.1. Analizar los cambios que provoca la ENTS sobre la actividad EEG cortical y de la AMGc en gatos con libertad de movimiento, a través de un análisis espectral.

4. Determinar los efectos que provoca la ENTS sobre la distribución temporal del ciclo sueño-vigilia en gatos con libertad de movimiento en registros de 23 horas.

4.1. Describir los efectos a corto y largo plazo que provoca la ENTS sobre el número, duración promedio, porcentaje y tiempo total de las fases del ciclo sueño-vigilia del gato con libertad de movimiento en registros de 23 horas.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. ANIMALES EXPERIMENTALES

Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Neurofisiología del Control y la Regulación del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”, Mexico, D.F. Se utilizaron 12 gatos adultos machos con un peso entre 3800 y 5200 grs. que fueron divididos en dos experimentos: agudos (n=6) y crónicos (n = 6). Todos los experimentos se realizaron siguiendo las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (NORM-062-ZOO-1999) y fueron aprobados por el comité de ética del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”, Mexico, D.F.

7.2. EXPERIMENTOS AGUDOS

Se utilizaron seis gatos, que fueron mantenidos bajo anestesia con una mezcla de clorhidrato de Ketamina (0.4 mg/kg) (PISA Farmaceutica, D.F. México) e hidrocloreuro de Xilacina (0.5 mg/kg) (SIGMA CHEMICAL, St Louis, USA) por vía intramuscular, con dosis de mantenimiento aproximadamente cada 30 min (clorhidrato de Ketamina (0.2 mg/Kg) y xilacina (0.1 mg/Kg) i.m. La temperatura de los animales se mantuvo a 37⁰ C durante todo el experimento. Se implantaron electrodos concéntricos de acero inoxidable fabricados en nuestro laboratorio que fueron dirigidas orientados estereotáxicamente hacia el NTS (P 13.5; L 2.5; H 4.0 mm), el nPBL (P 4.0; L 4.5; H 7.5 mm) y el AMGc (A 11.5; L 10; H 5.5 mm) (Snider y Niemer, 1961) del hemisferio izquierdo, además de un electrodo bipolar de acero inoxidable en NV izquierdo, caudal a la laringe (5 mm de separación, diseñado y fabricado en nuestro laboratorio).

7.2.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

A) ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NERVIO VAGO. Se registró la actividad multiunitaria del NTS, nPBL y AMGc con amplificadores p511k (GRASS, Massachussets) y se obtuvo la actividad control durante cinco min y después se aplicaron series de 32 pulsos eléctricos simples (PS) al NV (1 ms, cada 3 s), con intervalos de 3 min. En cada serie de PS la intensidad aumentó progresivamente 0.2 mA, hasta obtener la respuesta evocada máxima, que fue considera como umbral. Todas las estimulaciones fueron realizadas con un

estimulador S88 (GRASS, Massachussets), cuya salida fue conectada a unidad de aislamiento PSIU6 (GRASS, Massachussets).

Posteriormente se registró la actividad multiunitaria del NTS, nPBL y AMGc se obtuvo la actividad control durante cinco min y después se aplicaron trenes de estimulación a 30 Hz, pulsos de 0.5 ms, durante 1, 3, 5 y 60 seg., con intervalos de 10 min.

B) ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NTS. Después de la última estimulación vagal, se dejaron pasar 30 min. y se procedió a estimular el NTS, para esto se registró la actividad control del NV, nPBL y AMGc, durante cinco min., posteriormente se determinó el umbral de estimulación (como con el NV) y por último se aplicaron trenes de estimulación de 60 Hz, pulsos de 0.5 ms, durante 1, 3, 5 y 60 seg.

Todos los experimentos fueron adquiridos en cintas de video por medio de un convertidor analógico/digítal (Nicolet) y las señales fueron grabadas en el disco duro de un ordenador, a través de una tarjeta de adquisición desarrollada en nuestro laboratorio, con resolución de 8 *bits* a una frecuencia de muestreo de 1000 Hz.

7.2.2. ANÁLISIS

Se analizaron los cambios en el patrón de disparo neuronal producidos por la ENV y ENTS, sobre las estructuras registradas utilizando histogramas de frecuencia contra tiempo. Además se llevó a cabo un análisis espectral en los dominios de la frecuencia y la amplitud utilizando un programa computacional desarrollado en nuestro laboratorio (FFT3D) (Fernández-Mas, et al., 1998).

7.3. EXPERIMENTOS CRÓNICOS

Se utilizaron seis gatos, que fueron sometidos a una cirugía, para la cual fueron preanestesiados con una mezcla de ketamina hidroclicida (0.5 mg/kg) (PISA Farmaceutica, D.F. México) e hidroclicuro de xilaxina (0.1 mg/kg) (SIGMA CHEMICAL, St Louis, USA) y anestesiados posteriormente con una mezcla de halotano (PISA Farmaceutica, D.F. México) por vía respiratoria, con una concentración del 5% en el flujo de oxígeno (O₂) para la inducción y al 2% para el mantenimiento. Se implantaron electrodos de acero inoxidable fabricados en nuestro laboratorio. Se insertaron electrodos epidurales en la corteza pre-frontal izquierda (Cx Pf-I) y derecha (Cx Pf-D) para el registro del

electrocorticograma (ECoG) y en el arco supraorbital del ojo izquierdo para el electrooculograma (EOG). El electromiograma (EMG) se registró por medio de dos alambres de acero inoxidable insertados en los músculos de la nuca. Además de implantaron electrodos bipolares de acero inoxidable orientados estereotáxicamente hacia ambos cuerpos geniculados laterales del tálamo (CGL) (A 6.5; L 9.5; H 13.5 mm), AMGc de ambos hemisferios (A 11.5; L 10; H 5.5 mm) y en el NTS izquierdo (P 13.5; L 2.0; H 4.0 mm) (Snider y Niemer, 1961). Los electrodos fueron soldados a un conector DB25 (Amphenol) y fijados al cráneo con acrílico dental (NicTone, mdc dental, México) Posterior a la cirugía, los animales fueron colocados en cajas sonoamortiguadas (80 x 80 x 120 cm) y tuvieron un periodo de recuperación y habituación de 15 días. El agua y alimento se administró *ad libitum* y tuvieron un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 hrs. (8:00 a.m. - 8:00 p.m. luz; 8:00 p.m.- 8:00 a.m. oscuridad).

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

7.3.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Después del periodo de recuperación y habituación, cada uno de los animales fue sometido a ocho registros polisomnográficos con duración de 23 h, bajo un ciclo de 12 h luz/12 h oscuridad (luz de 08:00 a 20:00 h), por medio de amplificadores 7P511K (GRASS, Massachussets). En primer lugar, se realizaron dos registros de línea base (LB) y posteriormente, otros seis registros aplicando la ENTS. Los experimentos dieron inicio a las 9:00 a.m. y finalizaban a las 8:00 a.m. del día siguiente.

Durante los registros de LB los gatos fueron sometidos a una simulación de los periodos de estimulación (a partir de las 10:00 a.m.) que consistió en mantenerlos en estado de vigilia durante 1 min a intervalos de 5 min. (1 min On /5 min Off) durante una hora.

Tras la conclusión de los registros de LB se procedía a establecer el umbral de estimulación del NTS, de acuerdo a los signos poligráficos y conductuales descritos previamente por nuestro grupo (Fernández-Guardiola y cols., 1998; Fernández-Guardiola y cols., 1999; Valdés-Cruz et al., 2002, 2008).

Brevemente, se aplicaron series de estimulación de 20 seg a intervalos de cinco min, donde se incrementaba sucesivamente la intensidad del estímulo hasta la aparición de respuestas vegetativas como lengüeteo, deglución, reflejo de vómito y/o contracciones abdominales. Todas las estimulaciones fueron realizadas con un estimulador S88 (GRASS, Massachussets), cuya salida fue conectada a unidad de aislamiento PSIU6 (GRASS, Massachussets).

Una vez determinado el umbral, al día siguiente iniciaron los registros con ENTS, durante los cuales se aplicaron diez trenes de estimulación (1 min *on*/5 min *off*; pulsos catódicos monofásicos de 0.5 ms, 30 Hz; 200 - 400 μ A) - a partir de las 10:00 a.m.-; siempre en estado de vigilia. La conducta de los animales fue grabada con una cámara de video durante dos horas, a partir del primer estímulo del NTS (ver figura 7.1).

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

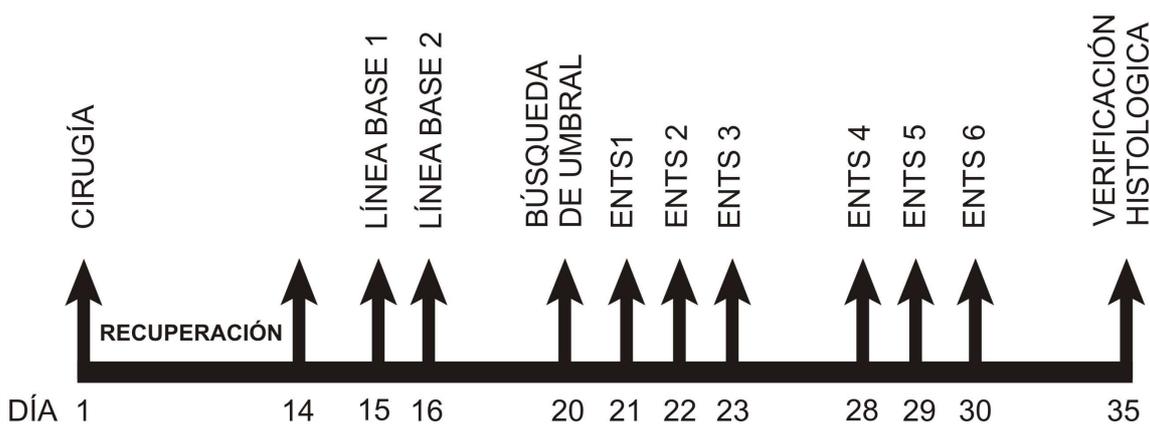


Figura 7.1. Paradigma experimental. La línea horizontal representa los días 35 días requeridos para la realización de los experimentos. Las líneas verticales representan el día y el procedimiento realizado. Se realizaron dos registros de línea base y seis con estimulación al NTS representados como ENTS1 a ENTS 6.

Los polisomnogramas fueron registrados en papel y digitalizados *on-line*, por medio un sistema de adquisición analógico/digítal (ASTRO-DAQ), con resolución de 16 bits y una frecuencia de muestreo de 200 Hz.

7.3.2. ANÁLISIS

7.3.2.1. ANÁLISIS ESPECTRAL. Se realizó un análisis espectral de las señales registradas en cada una de las estructuras en las condiciones LB y ENTS, que fueron comparadas en cada condición experimental y entre ellas.

A) CAMBIOS A CORTO PLAZO. Para este análisis se utilizó el *software* comercial Spike 2 (Cambridge Electronic Design). A partir de las señales

registradas, se realizaron 140 espectros de potencia a cada animal. a) De cada registro de LB se obtuvieron 10 espectros de potencia de los periodos de simulación (n=20); b) mientras que de cada registro con ENTS se obtuvieron 10 espectros de cada momento de estimulación (n=60) y c) 10 más de cada minuto posterior al estímulo (n=60), que serán considerados como condición POST. Cada espectro de potencia fue de un minuto, con un ancho de banda de 0.3 a 50 Hz y ventanas de 2.6 seg (Hanning) de la potencia absoluta, a partir de la tradicional transformada rápida de Fourier (FFT).

Posteriormente, se obtuvieron los valores numéricos de la densidad espectral (V^2), que fueron agrupados de acuerdo a su condición experimental (LB, ENTS, POST) y fueron divididos en las siguientes bandas de frecuencia: DELTA (0.5 – 3.5 Hz); TETA (3.6- 8.0 Hz); ALFA (8.1-12.0 HZ), BETA (12.1 - 26.5 Hz) y 12-14 Hz, que corresponde a los husos de sueño y sera abreviada como HS. Los valores fueron comparados estadísticamente entre sí y se determinaron las diferencias estadísticamente significativas con un análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de la prueba post hoc Bonferroni para determinar las diferencias entre los grupos.

B) CAMBIOS A MEDIO Y LARGO PLAZO. Para esto, nuestro laboratorio desarrollo un programa (*software*) de propósito específico, capaz de realizar espectros de potencia y representar su gráfica como un objeto sólido. La imagen obtenida, es comparada con la potencia absoluta de una frecuencia en particular y es llamado “FFT3D” (Fernández-Mas y cols., 1998), al utilizar el tradicional algoritmo de la FFT para épocas estacionarias grandes del EEG y la transformada continua de ondeletas “*Wavelets*” (CWT) para fenómenos no-estacionarios y transitorios, que tiene la ventaja sobre la FFT, de analizar ventanas de tiempo variable más pequeñas y adaptables a cada rango de frecuencia.

Con el uso del programa fue posible obtener los valores numéricos de la potencia absoluta de cada banda de frecuencia en intervalos de 23, 12, 6 h y hora por hora de cada registro (los valores obtenidos fueron considerados como densidad espectral). Posteriormente, dichos valores se normalizaron en contra de la potencia máxima de cada banda de frecuencia (delta, teta, alfa, hs y beta). Una vez normalizados los valores de la potencia, se realizó un análisis

estadístico para determinar las diferencias estadísticamente significativas entre la condición LB y ENTS

Los valores fueron agrupados de acuerdo a su condición experimental e intervalo de tiempo (1 h, 6 h, 12 h, o 23 h), se determinaron las diferencias entre los grupos y se analizaron estadísticamente con las pruebas *t* de student y la prueba ANOVA de medidas repetidas de un factor. El análisis se realizó en los registros de la Cx Pf izquierda, derecha y AMGc izquierda.

7.3.2.2. EFECTOS SOBRE EL CICLO SUEÑO-VIGILIA. A partir de los registros poligráficos, se calificaron visualmente las fases de Vigilia, SOL I, SOL II y MOR de acuerdo a los criterios de Ursin y Sterman (1981) y se realizó un hipnograma (distribución en el tiempo de las fases del sueño) de cada registro con el programa *winsleep* (Calvo y Fernández-Mas, 1991).

Con esto, fue posible obtener los valores numéricos de la frecuencia, duración promedio, porcentaje y tiempo total de cada una de las fases de sueño. Posteriormente se determinaron los valores promedio de cada fase durante 23 hrs.; a intervalos de seis hrs. (1-6; 6-12; 12-18 y 18-23 hrs.) y hora por hora.

Se analizó estadísticamente el porcentaje, frecuencia, duración promedio y tiempo total de cada una de las fases en ambas condiciones por medio de la prueba *t* de student para grupos dependientes ($p < 0.05$) con el programa IBM SPSS Statistics versión 21.

7.3.3. VERIFICACIÓN HISTÓLOGICA

Al final de todos los experimentos, los gatos fueron eutanizados con una sobredosis de pentobarbital sódico (PISA Farmaceutica, D.F. México) y fueron perfundidos por vía cardiaca con solución fisiológica y formaldehído al 10 % (J.T. Baker, Xalostoc, México). El cerebro fue removido y colocado en formaldehído durante una semana. Posteriormente se llevaron a cabo cortes histológicos coronales seriados, de 40 a 60 μm ., para la verificación del sitio de registro de los electrodos utilizando la técnica del procedimiento rápido (Guzmán-Flores, et al., 1958) (figura 7.2.).



Figura 7.2. Ejemplos del procedimiento rápido de verificación de electrodos. La fotografía de lado izquierdo corresponde a la de un electrodo dirigido hacia el NTS y la de la derecha corresponde a la trayectoria de un electrodo dirigido hacia el nPBL.

8. RESULTADOS

8.1. EXPERIMENTOS AGUDOS

8.1.1. EFECTOS DE LA ENV SOBRE LA ACTIVIDAD MULTIUNITARIA.

El primer resultado de estos experimentos consistió en delimitar el umbral de estimulación de la ENV para evocar la respuesta de máxima amplitud en el NTS y nPBL. De esta manera el voltaje óptimo para la ENV varió de 2.8 y 3.5 V (2.8-3.5 mA con unidad de aislamiento en escala de 1-15 mA) 1.5-3.0 mA) (figura 8.1.).

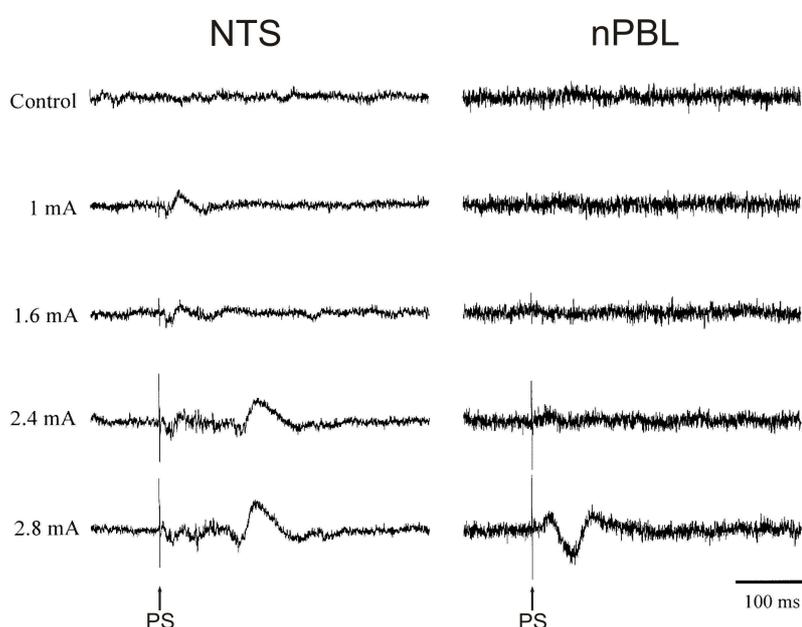


Figura 8.1. Búsqueda de la respuesta evocada máxima para la estimulación aguda del nervio vago. Actividad promedio de 32 pulsos simples (PS) en el NV a diferentes intensidades de estimulación. Las flechas indican el momento de la aplicación del PS. Nótese el aumento en la respuesta evocada conforme se aumenta la intensidad.

La respuesta en la actividad multiunitaria del NTS, nPBL y AMGc, aumentó progresivamente a partir de los PS. Por el contrario, después de iniciar la serie de trenes de estimulación (1, 3, 5 y 60 seg.), la actividad del NTS y nPBL comenzó a disminuir en voltaje y frecuencia de disparo tras la aplicación de trenes de 3 seg., mientras que la actividad de la AMG comenzó a incrementar su frecuencia de disparo (figura 8.2.).

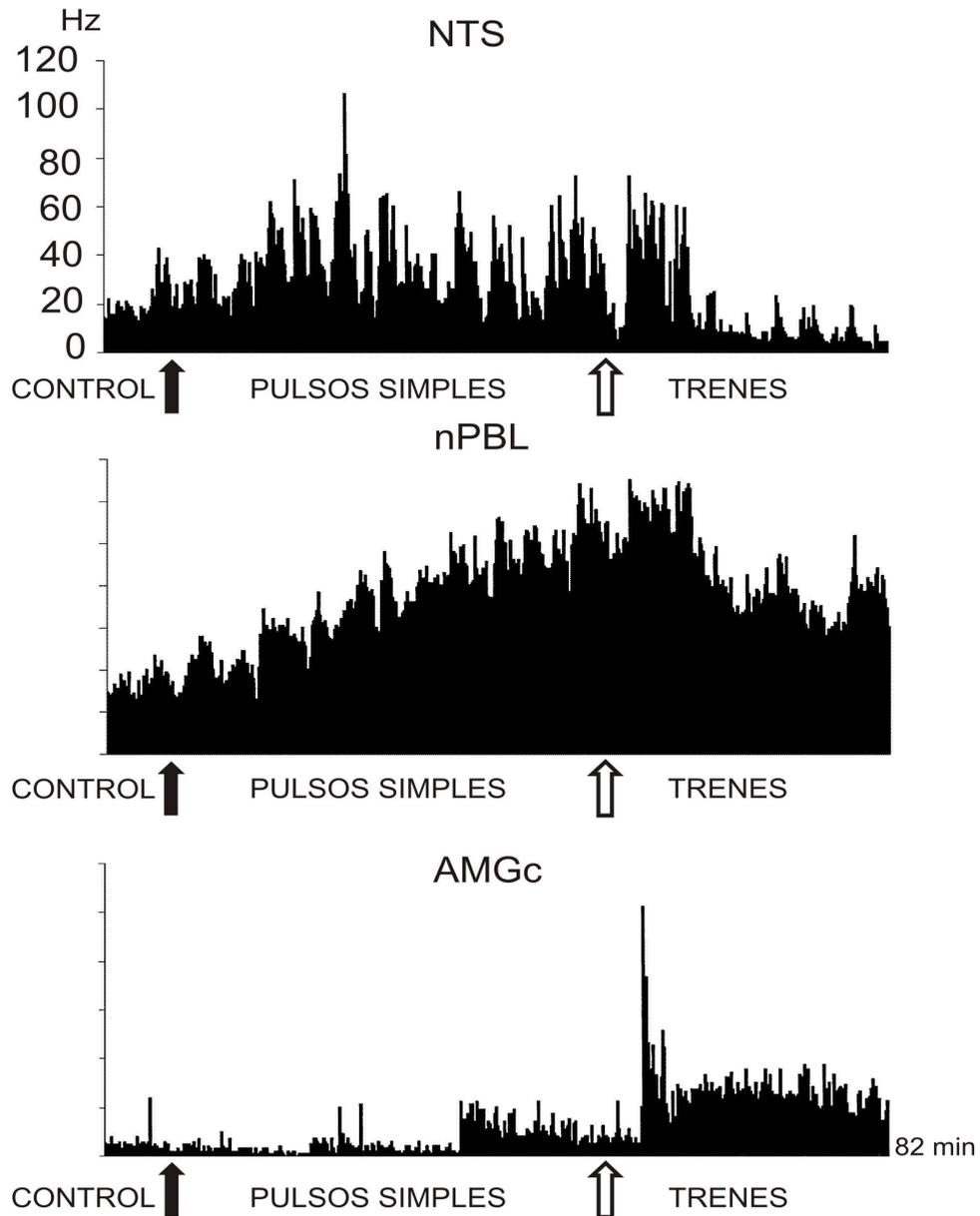


Figura 8.2. Histograma de frecuencia del disparo neuronal del NTS, nPBL y AMGc, con la aplicación de pulsos simples y trenes de estimulación al NV. Las flechas muestran el inicio de la estimulación con PS y de los trenes de estimulación. Nótese el aumento de la actividad neuronal a partir del inicio de los PS y su disminución a partir de los trenes de estimulación.

Un efecto a destacar es el hecho de que después de la aplicación de los trenes de estimulación de 60 seg., la ENV produce una respuesta de larga duración con potenciales de campo rítmicos con frecuencia de 1 Hz que llegan a perdurar más de 9 minutos (figura 8.3.).

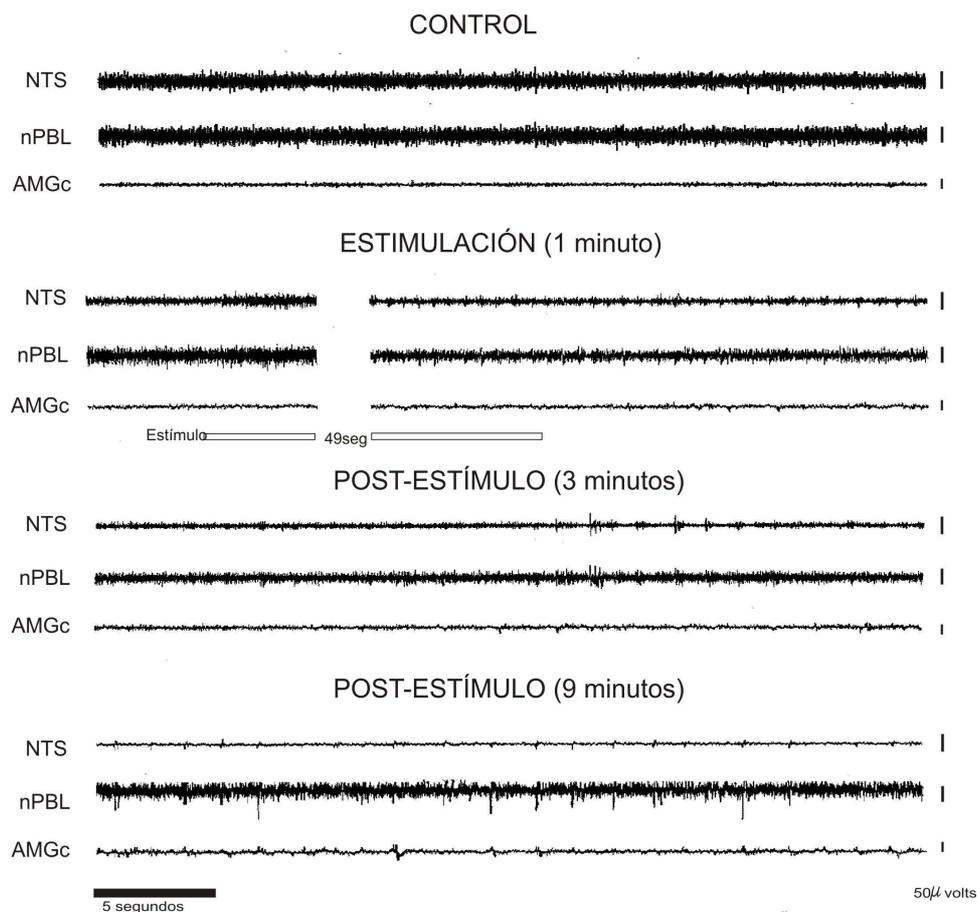


Figura 8.3. Efecto de la ENV sobre la actividad del núcleo del NTS, nPBL y AMGc en situación control y en 1, 3 y 9 minutos posteriores a la estimulación. Nótese la persistencia de los potenciales rítmicos a 1 Hz principalmente en el nPBL.

8.1.2. EFECTOS DE LA ENTS SOBRE LA ACTIVIDAD MULTIUNITARIA

La intensidad de la ENTS para evocar una respuesta máxima fue de 300 a 500 μ A (con unidad de aislamiento en escala de .1-1.5 mA) (figura 8.4.).

En cuanto a la actividad multiunitaria, la ENTS, produjo un efecto similar que la ENV, tras aplicar pulsos y trenes de estimulación, donde también se presenta la actividad rítmicas de 1 Hz en los registros de nPBL y AMGc, que también fue permanente por varios minutos después de la conclusión del último tren de estimulación (figura 8.5. y 8.6.).

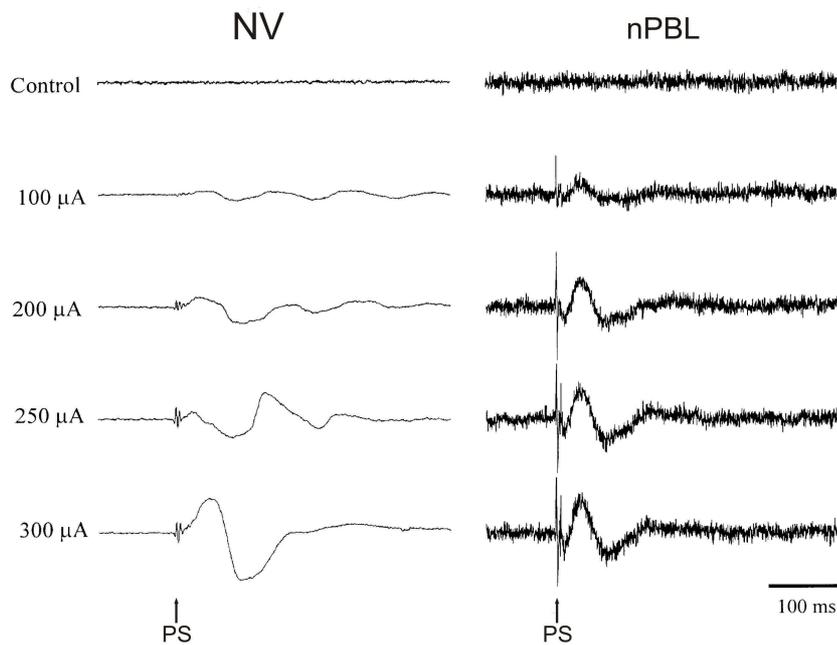


Figura 8.4. Búsqueda de la respuesta evocada máxima para la estimulación aguda del NTS. Actividad promedio de 32 PS en el NTS a diferentes intensidades de estimulación. Las flechas indican el momento de la aplicación del PS. Nótese el aumento en la respuesta evocada conforme se aumenta la intensidad.

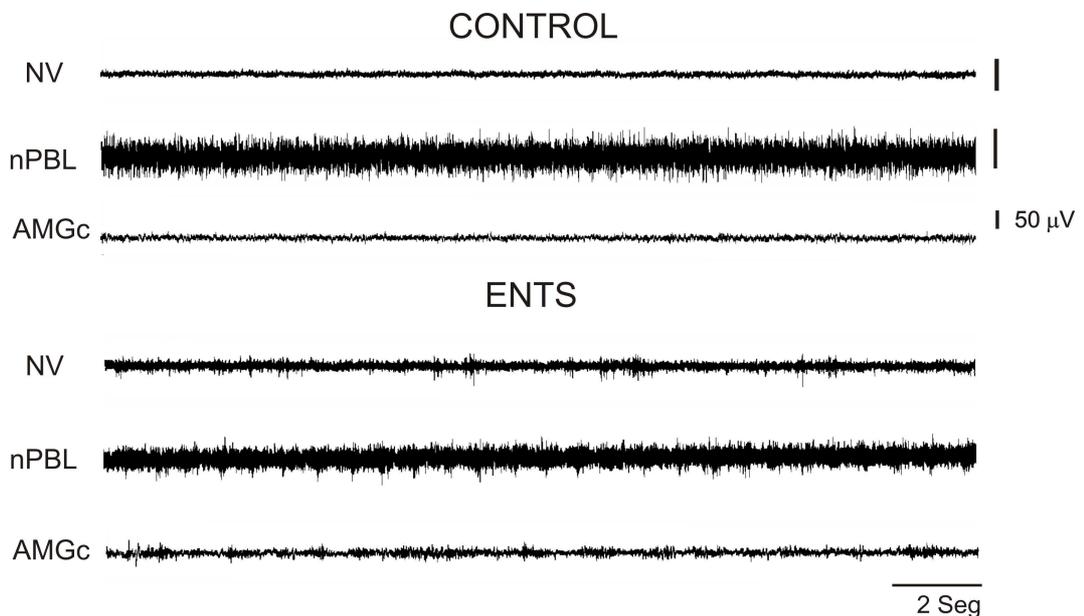


Figura 8.5. Registro del NV y la actividad multiunitaria del nPBL y AMGc en condición control (panel superior) y 30 s después de la aplicación de un tren de estimulación de 60 s en el NTS (panel inferior).

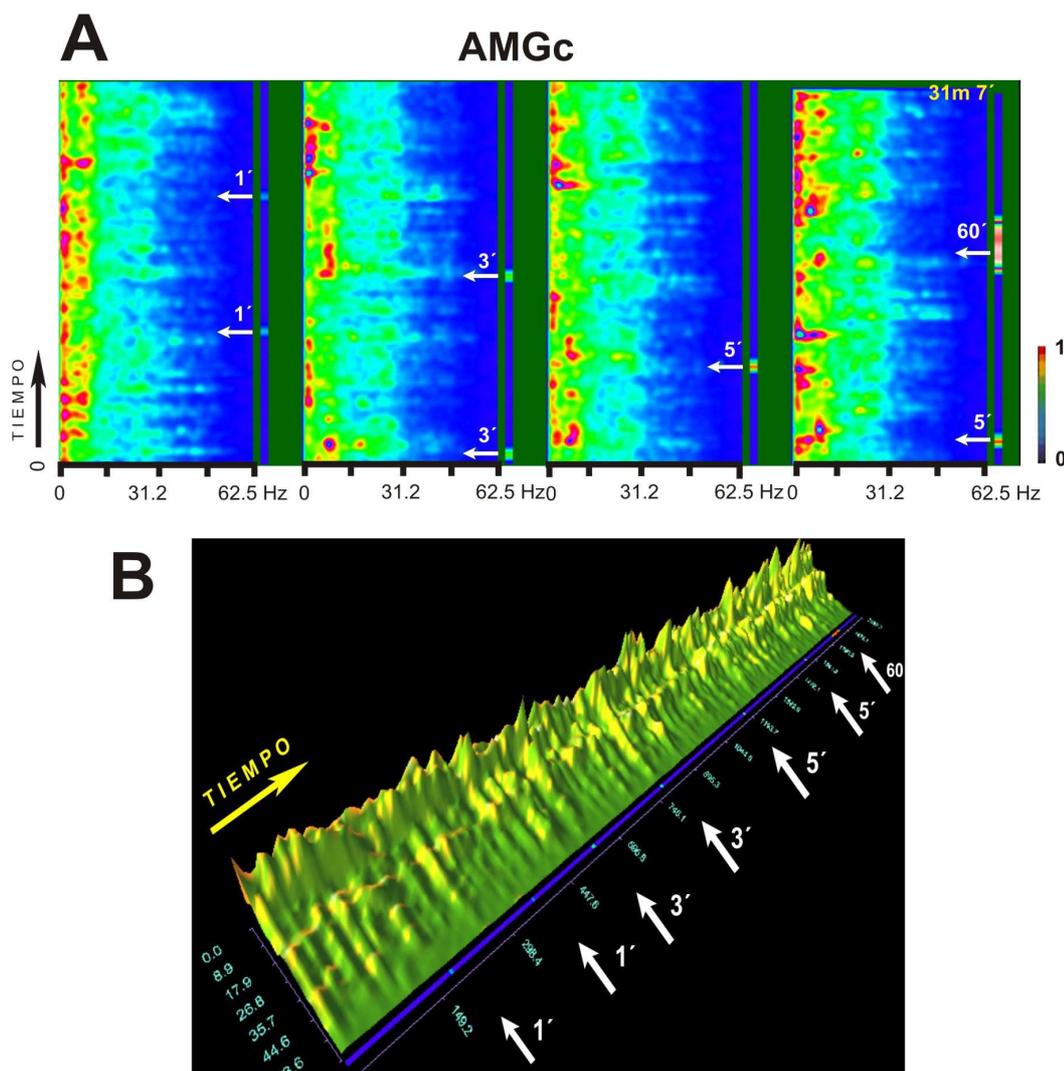


Figura 8.6. Evolución en el dominio de la frecuencia analizada con *wavelets* como estimador espectral. A) Espectrograma de 0-62.5 Hz de la actividad de la AMGc aplicando trenes de estimulación de 1, 3, 5 y 60 seg al NTS. La potencia se representa mediante una escala de colores de rojo a azul, siendo los colores calidos los de mayor potencia y los colores fríos los de menor poder espectral (barra a la izquierda en el panel superior). B) Representación tridimensional de los mismos datos que en A, donde los componentes espectrales se representan como mantañas y su amplitud representa la potencia. Las flechas blancas indican el momento de la aplicación de la estimulación y su duración. Tiempo de análisis 35 min.

8.2. EXPERIMENTOS CRÓNICOS

8.2.1. EFECTOS DE LA ENTS SOBRE CONDUCTAS DE TIPO VEGETATIVO

Durante los periodos de estimulación, los animales presentaron respuestas conductuales de tipo vegetativo como: lengüeteo, deglución, contracciones abdominales y polipnea. También se presentaban parpadeos, mirada fija hacia arriba, movimientos oculares e inmovilizaciones breves y súbitas.

8.2.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESPECTRAL

Para el análisis se incluyeron 12 registros de LB y 31 con ENTs. Como se describió previamente, se analizaron los efectos a corto, medio y largo plazo que produce la ENTs izquierdo con lo cual fue posible observar los siguientes resultados. El umbral de estimulación en los seis gatos varió entre 250–400 μ A (con unidad de aislamiento en escala de .1-1.5 mA).

8.2.2.1. CAMBIOS EN LA DENSIDAD ESPECTRAL DE LA CX PF IZQUIERDA

A) CAMBIOS A CORTO PLAZO. Al comparar los valores de la densidad espectral en LB, ENTs y POST de cada uno de los gatos, se observó un aumento estadísticamente significativo en la potencia de las bandas teta, HS y beta en las condiciones ENTs y POST en comparación con los valores de LB (figura 8.7.).

El aumento de la potencia durante la ENTs y POST también fue evidente al comparar gráficamente los espectros de potencia en cada situación experimental (figura 8.8.) y a través de espectrogramas realizados con el programa FFT3D (figura 8.9.).

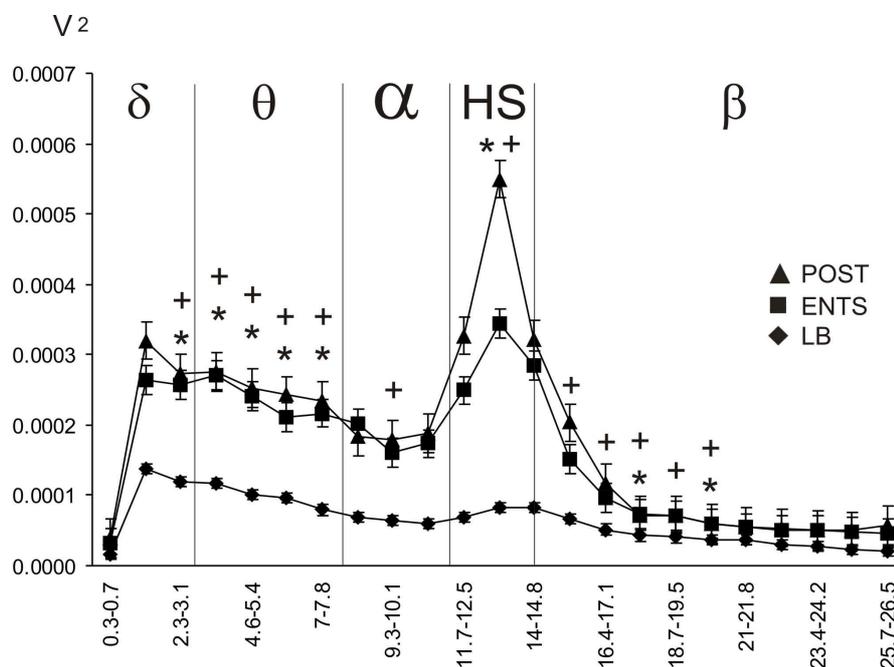
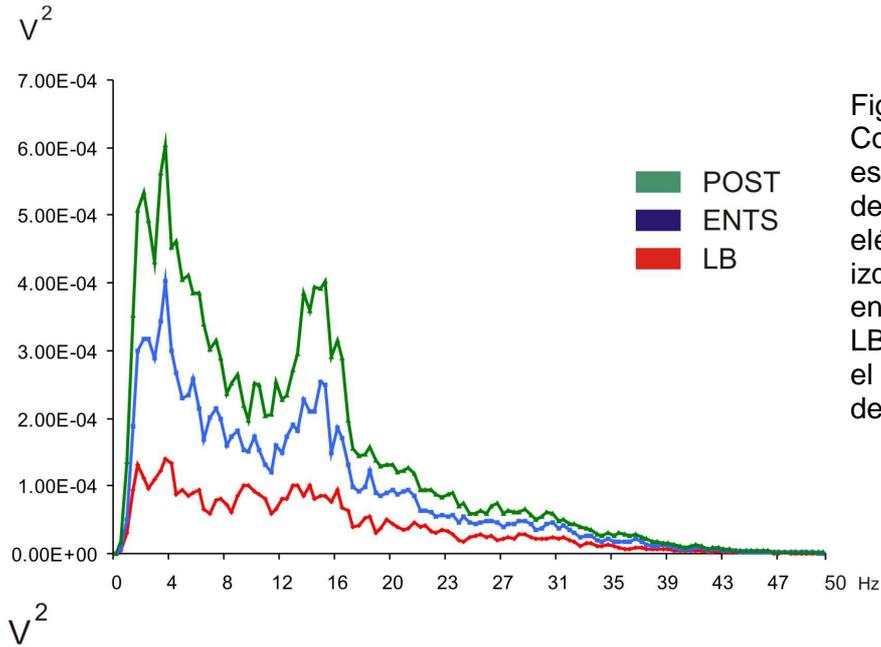


Figura 8.7. Comparación de los valores promedio de la densidad espectral de la Cx Pf Izquierda en un gato en las bandas de frecuencia delta (δ), teta (θ), alfa (α), husos de sueño (HS) y beta (β), durante los periodos de simulación en LB (n=20), periodos con ENTs (n=60) y post-estimulación (n=60). * LB vs ENTs; ± LB vs POST. ANOVA post hoc Bonferroni ($p < 0.05$). Nótese el aumento en la banda HS en los registros ENTs y POST.



Por otra parte, los espectrogramas mostraron que la ENTS provoca un efecto sincronizador sobre la actividad EEG, pues conforme se acumulan los periodos de estimulación se presenta un aumento en la actividad de las bandas teta y de los husos de sueño (figura 8.9.). Un hecho a destacar es que los husos de sueño presentan una mayor potencia en comparación a los obtenidos en los registros de LB (figura 8.10.).

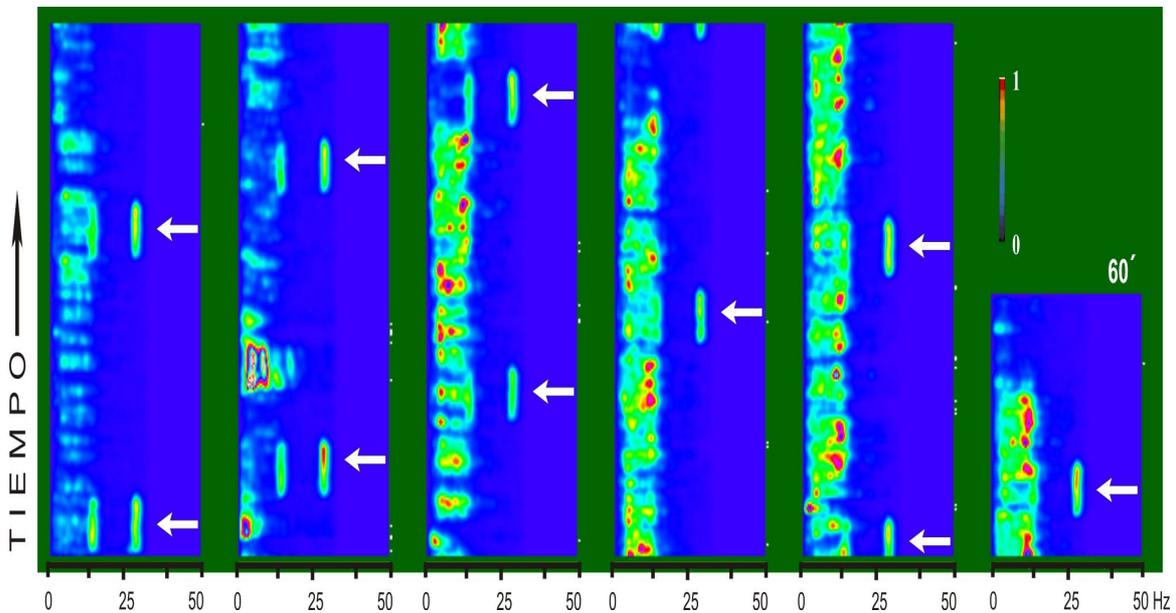


Figura 8.9. Espectrograma de la Cx Pf Izquierda en un gato durante los diez periodos de estimulación (1 min *on*/5 min *off*) a un gato. Nótese el aumento de la densidad espectral en la banda teta y de los husos de sueño (12-14 Hz). Las flechas blancas indican la ENTS. Los valores de la potencia son igual que en la figura 8.6.

B) CAMBIOS A MEDIO Y LARGO PLAZO. El análisis demostró que la ENTS provoca cambios discretos durante las 23 horas de registro, siendo destacable el aumento estadísticamente significativo de la densidad espectral de las bandas teta y beta durante las primeras 12 horas correspondientes al periodo de luz (figura 8.11.), mientras que las bandas alfa y HS, presentaron diferencias estadísticamente significativas sólo en algunas horas (figura 8.13.). En cuanto a la banda delta presentó una disminución en la potencia durante las 23 horas (figura 8.12.),

En lo concerniente a la hora en que se aplicó la estimulación, los valores de la potencia aumentaron en comparación a la LB, sin embargo no fueron estadísticamente significativos (figura 8.14).

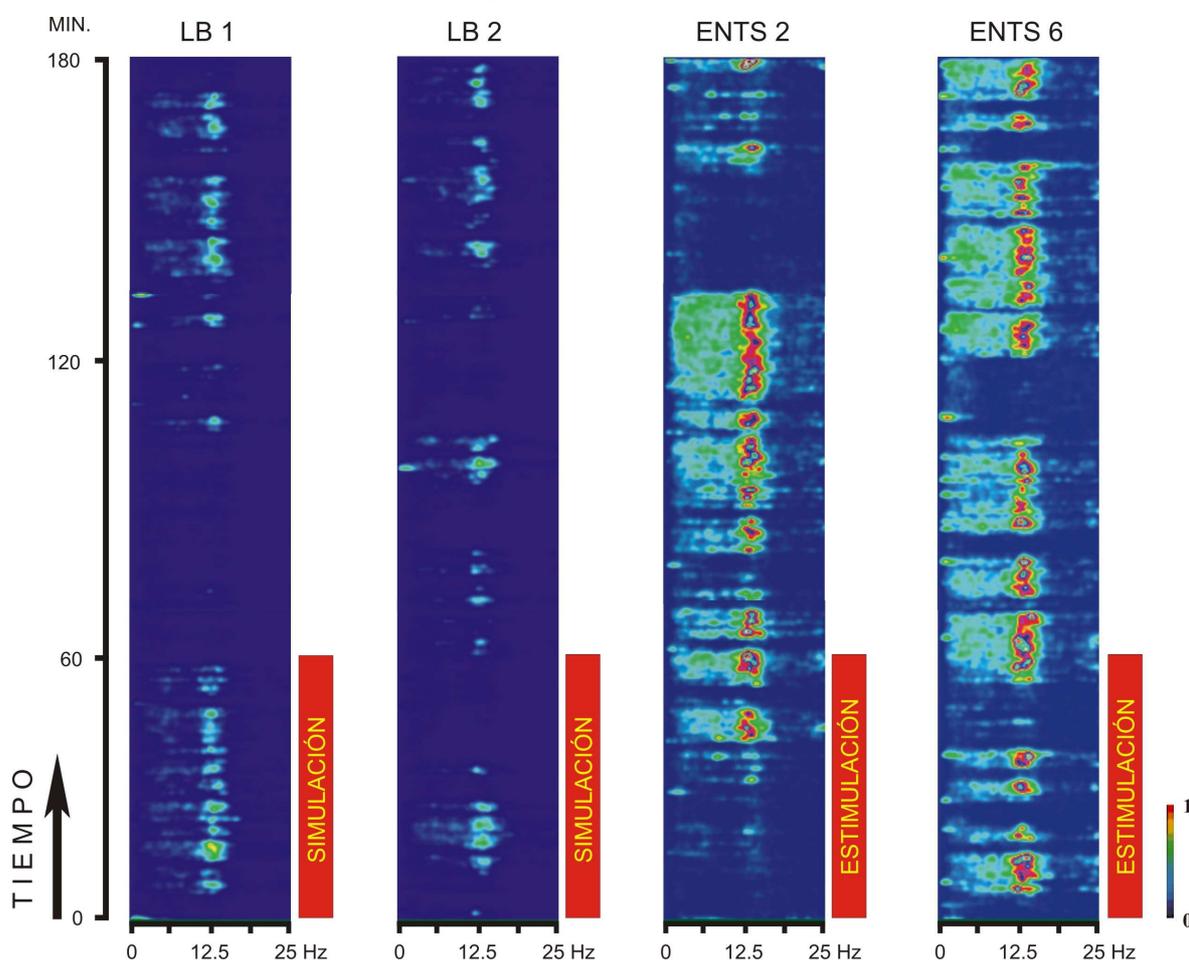


Figura 8.10. Efecto de la ENTS sobre la densidad espectral de la Cx Pf izquierda de un gato, durante dos registros de LB (izquierda) y dos con ENTS (derecha), en la banda de frecuencia de 0 - 25 Hz. Nótese el aumento en la potencia en la frecuencia de los husos de sueño (12-14 Hz) en los registros con ENTS. Los valores de la potencia son igual que en la figura 8.6.

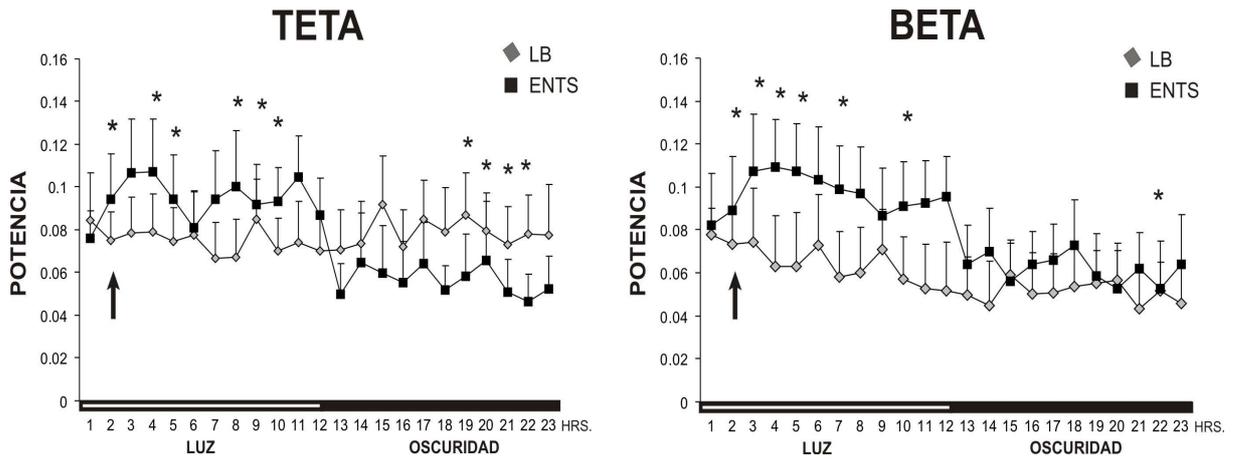


Figura 8.11. Efecto de la ENT5 sobre la densidad espectral normalizada de la banda teta y beta de la actividad EEG de la Cx Pf izquierda a intervalos de una hora de registros continuos de 23 horas de todos los gatos (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENT5 ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). Las flechas indican la hora de la manipulación experimental (simulación y ENT5).

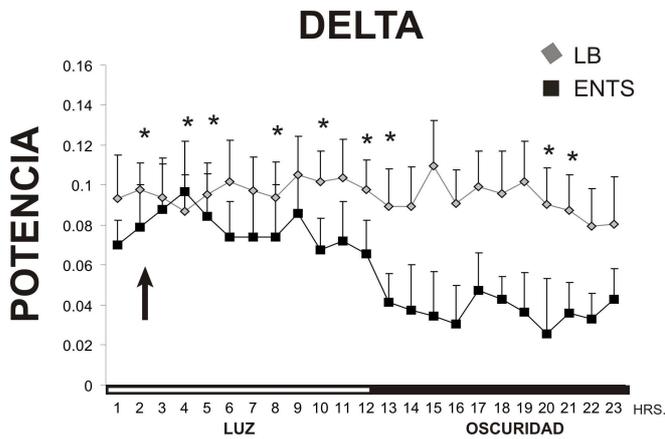


Figura 8.12. Efecto de la ENT5 sobre la densidad espectral normalizada de la Cx Pf izquierda en la banda delta en intervalos de una hora (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENT5 ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). La flecha indica la ENT5.

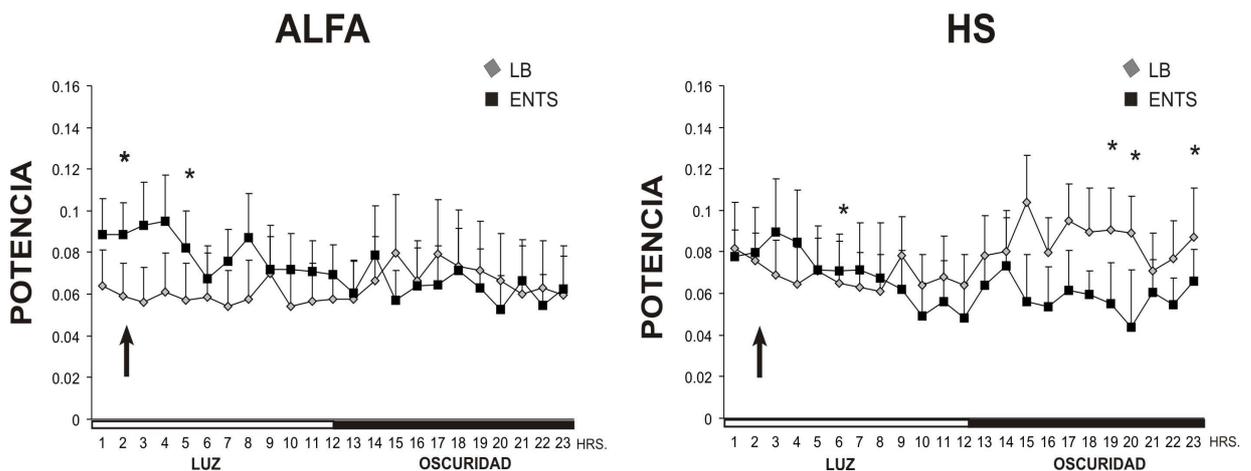


Figura 8.13. Efecto de la ENT5 sobre la densidad espectral normalizada de la Cx Pf izquierda en la banda alfa y husos de sueño (HS) en intervalos de una hora de registros continuos de 23 horas (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENT5 ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). Las flechas indican la hora de la manipulación experimental (simulación y ENT5).

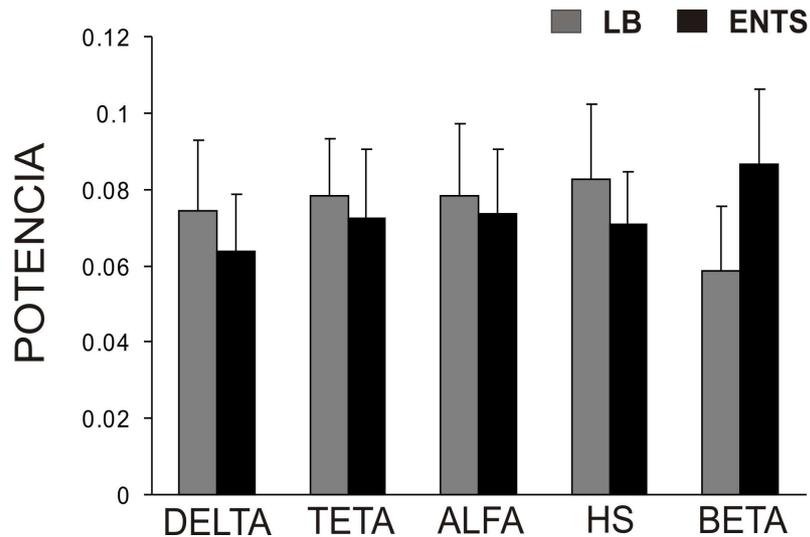


Figura 8.14. Efecto de la ENTs sobre la densidad espectral normalizada de la Cx Pf izquierda durante la hora de estimulación en las bandas de frecuencia delta, teta, alfa, HS y beta

Los análisis agrupados de seis horas muestran que en la condición ENTs se presenta una disminución estadísticamente significativa en las bandas delta y HS durante el intervalo de 13-18 horas (figura 8.15.).

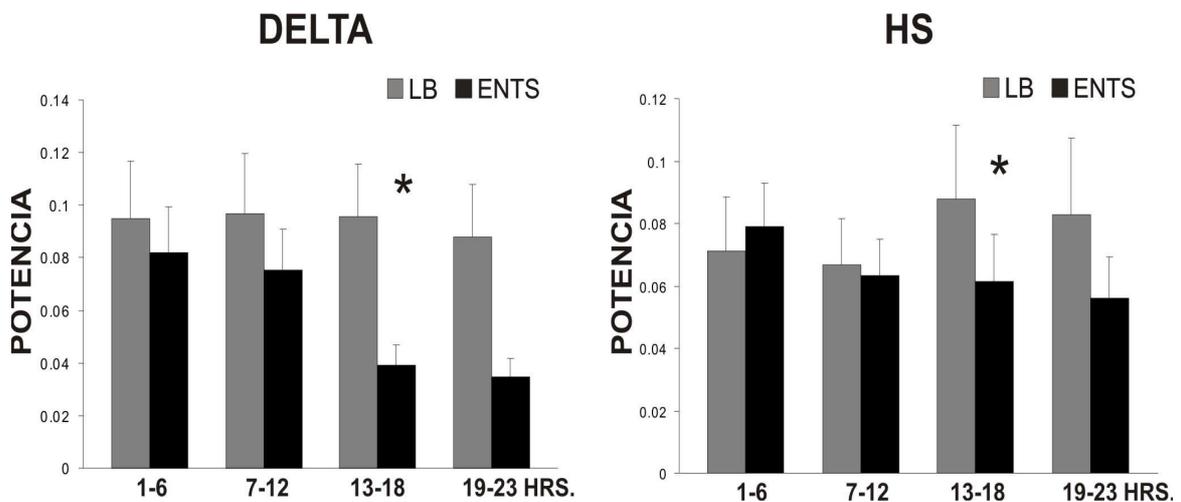


Figura 8.15. Efecto de la ENTs sobre la densidad espectral normalizada de la Cx Pf izquierda en intervalos de seis horas (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENTs *t* de student ($p < 0.05$).

Los análisis de 12 horas no presentaron cambios estadísticamente significativos (figura 8.16.).

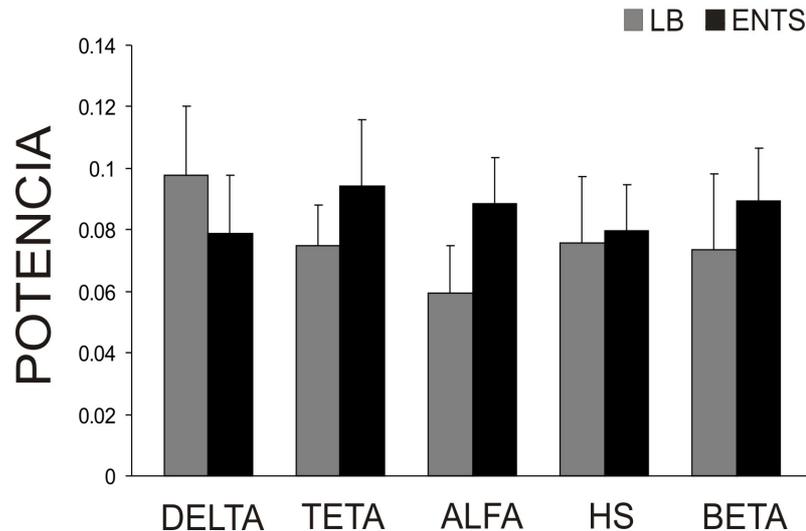


Figura 8.16. Efecto de la ENTS sobre la densidad espectral normalizada de la actividad EEG de la corteza Cx Pf izquierda en las bandas delta, teta, alfa, HS y beta durante 23 horas de registro (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENTS t de student ($p < 0.05$).

8.2.2.2. CAMBIOS EN LA DENSIDAD ESPECTRAL DE LA CX PF DERECHA

A) CAMBIOS A CORTO PLAZO. El análisis realizado muestra que la ENTS produce solamente un aumento estadísticamente significativo en la densidad espectral de la banda beta durante los periodos de ENTS; mientras que en la condición POST, la ENTS provoca un aumento estadísticamente significativo en las bandas teta, alfa, HS y beta en comparación de los valores de LB (figura 8.17).

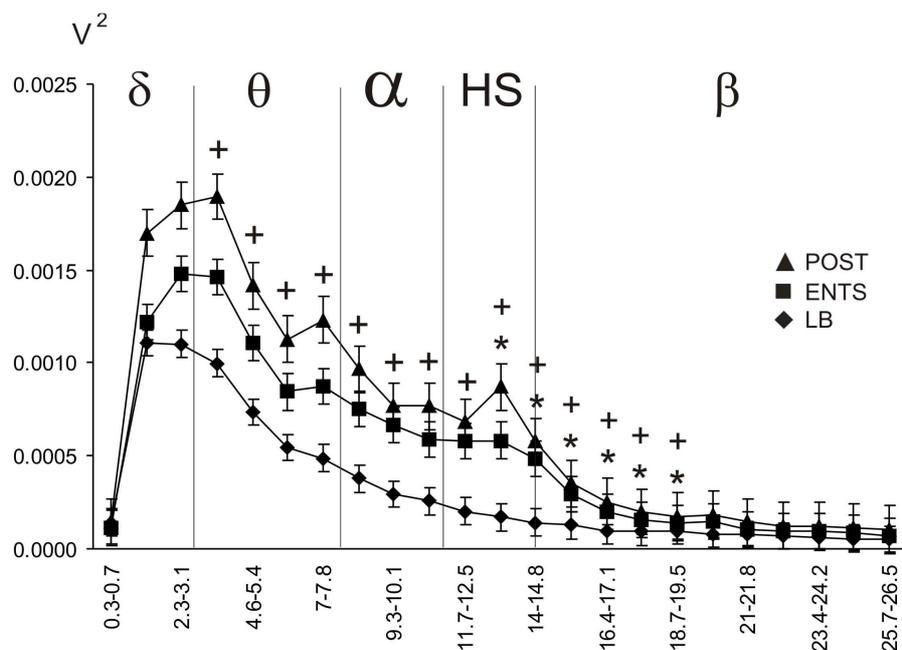


Figura 8.17. Comparación de los valores promedio de la densidad espectral de la Cx Pf Derechada en un gato en las bandas de frecuencia delta (δ), teta (θ), alfa (α), husos de sueño (HS) y beta (β), durante los periodos de simulación en LB (n=20), periodos

con ENTs (n=60) y post-estimulación (n=60). * LB vs ENTs; ± LB vs POST. ANOVA post hoc Bonferroni ($p < 0.05$).

B) CAMBIOS A MEDIO Y LARGO PLAZO. Al igual que en la Cx Pf izquierda, la Cx Pf derecha presentó cambios discretos a lo largo de las 23 horas de registro. Los análisis muestran que la ENTs provoca aumentos estadísticamente significativos en la banda alfa y beta (figura 8.18.), mientras que en la banda teta, los valores fueron menores a la LB durante las 23 horas de registro (figura 8.19.); en cuanto a las bandas delta y HS presentaron diferencias estadísticamente significativas sólo durante las primeras 12 horas (figura 8.20.).

Al comparar los valores de la densidad espectral entre la LB y ENTs durante la hora de estimulación se observó que la ENTs produce un aumento de potencia en las bandas delta, alfa, HS y beta, pero no se presentaron diferencias estadísticamente significativas (figura 8.21). En cuanto al análisis de 23 horas, tampoco se presentaron diferencias estadísticamente significativas (figura 8.22.).

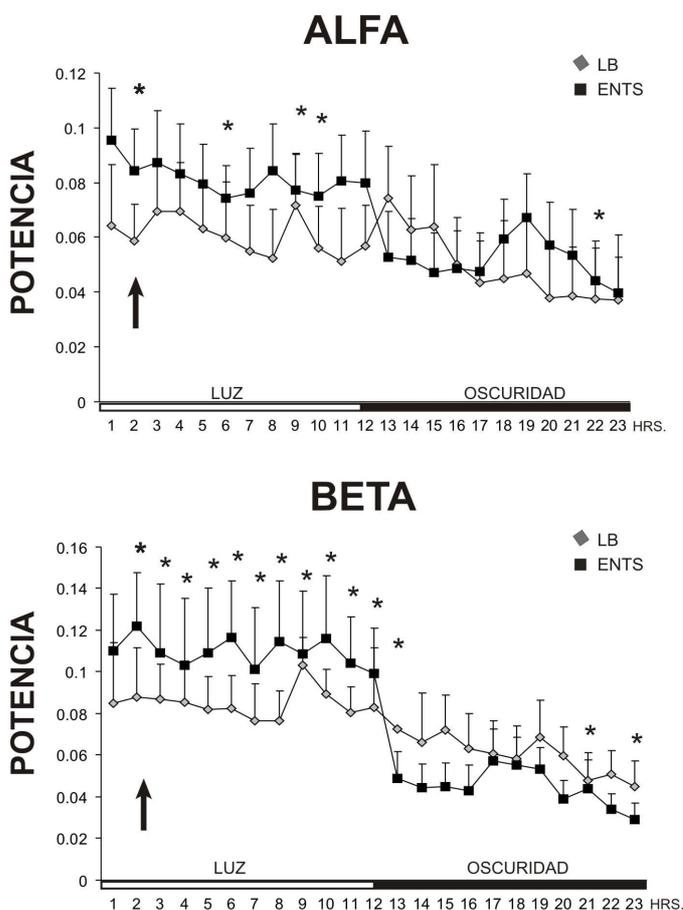


Figura 8.18. Efecto de la ENTs sobre la densidad espectral normalizada de la banda alfa y beta de la actividad EEG de la Cx Pf derecha a intervalos de una hora en registros de 23 horas de todos los gatos (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENTs ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). Las flechas indican la hora de la manipulación experimental (simulación y ENTs).

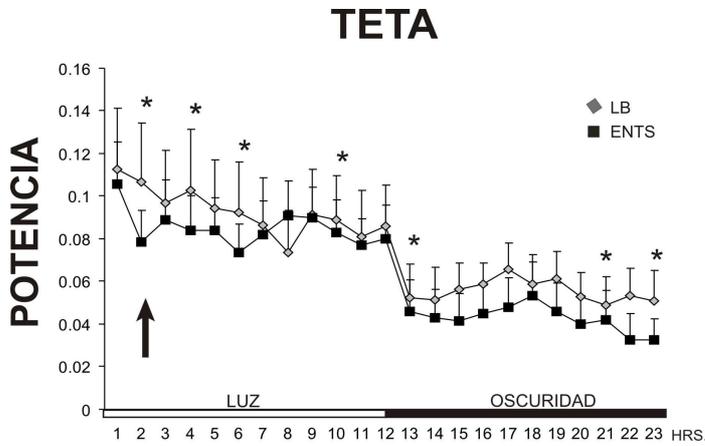


Figura 8.19. Efecto de la ENTS sobre la densidad espectral normalizada de la Cx Pf derecha en la banda teta en intervalos de una hora (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENTS ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). Las flechas indican la manipulación experimental.

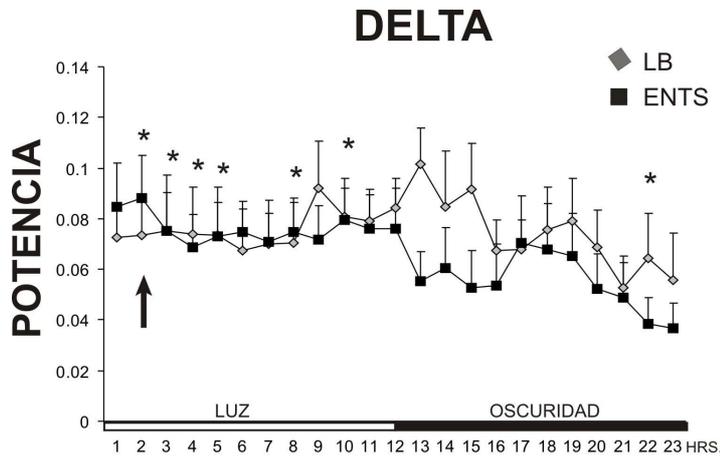
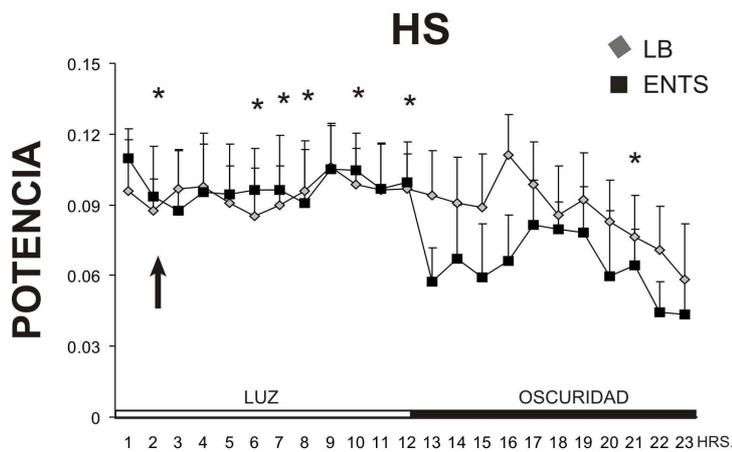


Figura 8.20. Efecto de la ENTS sobre la densidad espectral normalizada de la Cx Pf derecha en la banda delta y HS en intervalos de una hora de registros continuos de 23 hrs (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENTS ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). Las flechas indican la hora de la manipulación experimental (simulación y ENTS).



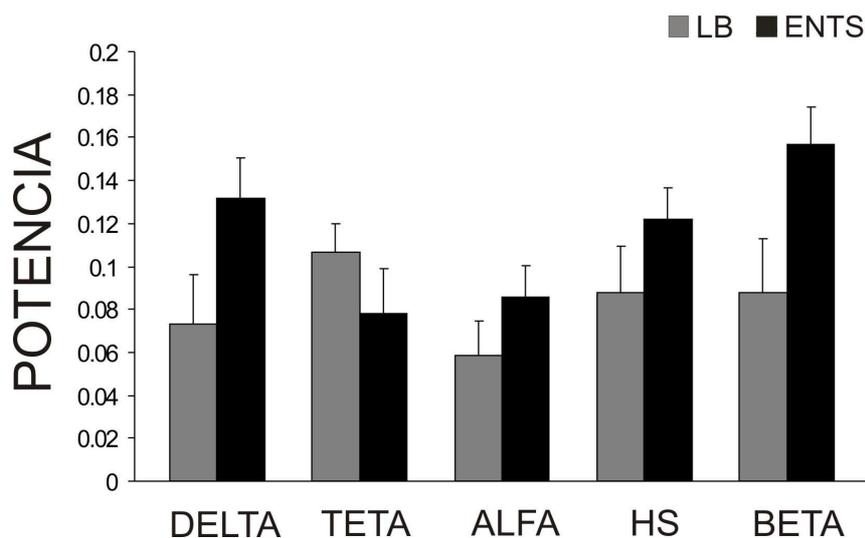


Figura 8.21. Efecto de la ENTs sobre la densidad espectral normalizada de la actividad EEG de la corteza Cx Pf derecha en las bandas delta, teta, alfa, HS y beta durante la hora de estimulación horas de registro (valores promedio \pm error estándar).

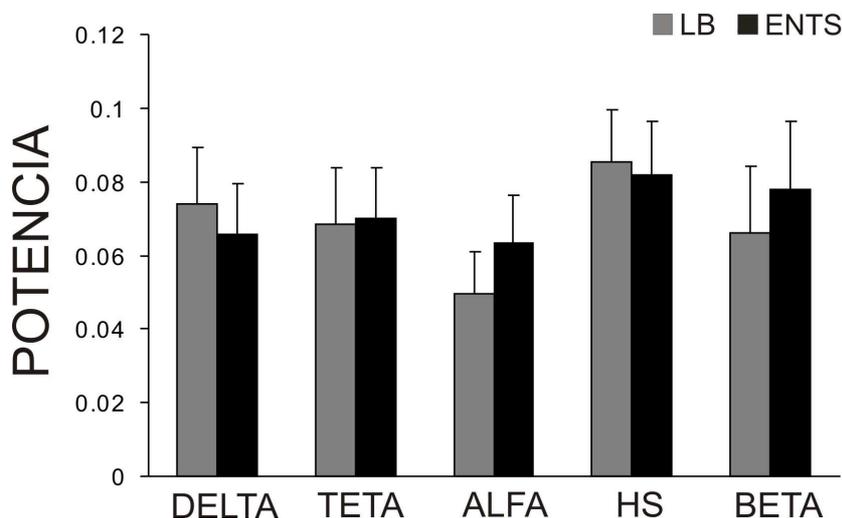


Figura 8.22. Efecto de la ENTs sobre la densidad espectral normalizada de la actividad EEG de la corteza Cx Pf derecha en las bandas delta, teta, alfa, HS y beta durante 23 horas de registro (valores promedio \pm error estándar).

8.2.2.3. CAMBIOS EN LA DENSIDAD ESPECTRAL DE LA AMÍGDALA IZQUIERDA

A) CAMBIOS A CORTO PLAZO. Al comparar los valores de la densidad espectral de LB contra los periodos ENTs y POST se observó lo siguiente: 1) la situación ENTs presenta aumentos estadísticamente significativos en la banda delta en comparación a los valores de LB; 2) los valores POST fueron mayores que la LB y ENTs en las bandas de frecuencia delta, teta y alfa (figura 8.23.).

Por otra parte, como en la figura 8.10., al comparar los espectrogramas de los registros de LB y ENTs, fue evidente que la ENTs provoca una mayor

densidad espectral en las bandas de frecuencia delta y teta (1 a 8 Hz) en los periodos de estimulación y más drásticamente en los periodos POST en comparación a los periodos de LB (figura 8.24.).

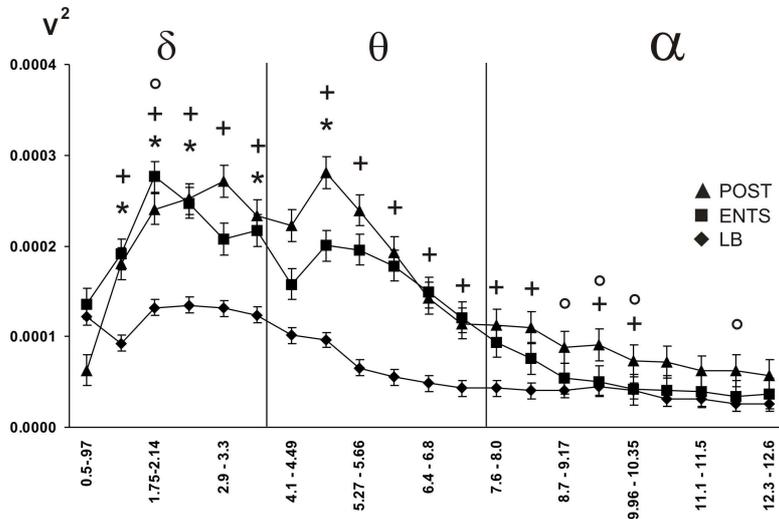


Figura 8.23. Comparación de los valores promedio de la densidad espectral de la AMG izquierda de un gato en las bandas de frecuencia delta (δ), teta (θ), alfa (α) y beta (β) durante los periodos de simulación en LB (n=20), periodos con ENTs (n=60) y periodos POST (n=60). * LB vs ENTs; \pm LB vs POST; \circ ENTs vs POST. ANOVA post hoc Bonferroni ($p < 0.05$).

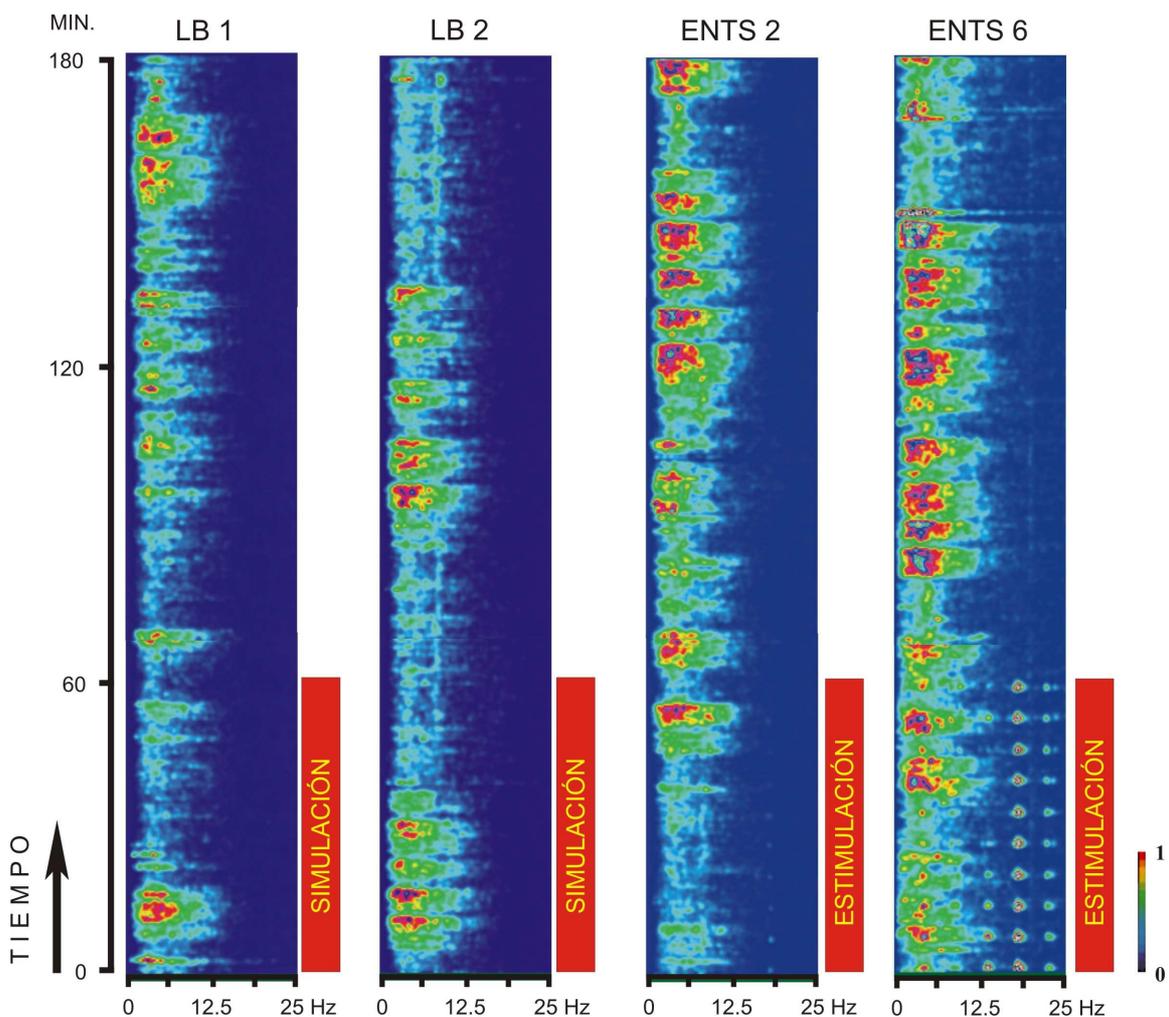


Figura 8.24. Espectrogramas de la actividad EEG de la amígdala del lóbulo temporal izquierdo de un gato, durante dos registros de LB (izquierda) y dos con ENTS (derecha), en la banda de frecuencia de 0 - 25 Hz. Nótese el aumento en la potencia de rango delta y teta después de concluir la estimulación. Los valores de la potencia son igual que en la figura 8.6.

B) CAMBIOS A MEDIO Y LARGO PLAZO. Al analizar los cambios hora por hora de la densidad espectral de las bandas delta y alfa, la ENTS presenta valores mayores que los de la LB, sin embargo al transcurrir el tiempo mostrarán una tendencia a la disminución hasta llegar a ser de menor magnitud que los de LB en los periodos de oscuridad (figura 8.25.). Las bandas teta y beta no presentaron diferencias en las 23 horas de registro (Datos no presentados). En cuanto al análisis de 12 y 23 horas la ENTS presentó un aumento en los valores de la potencia de la banda delta y alfa en los periodos de luz, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas (figura 8.26.)

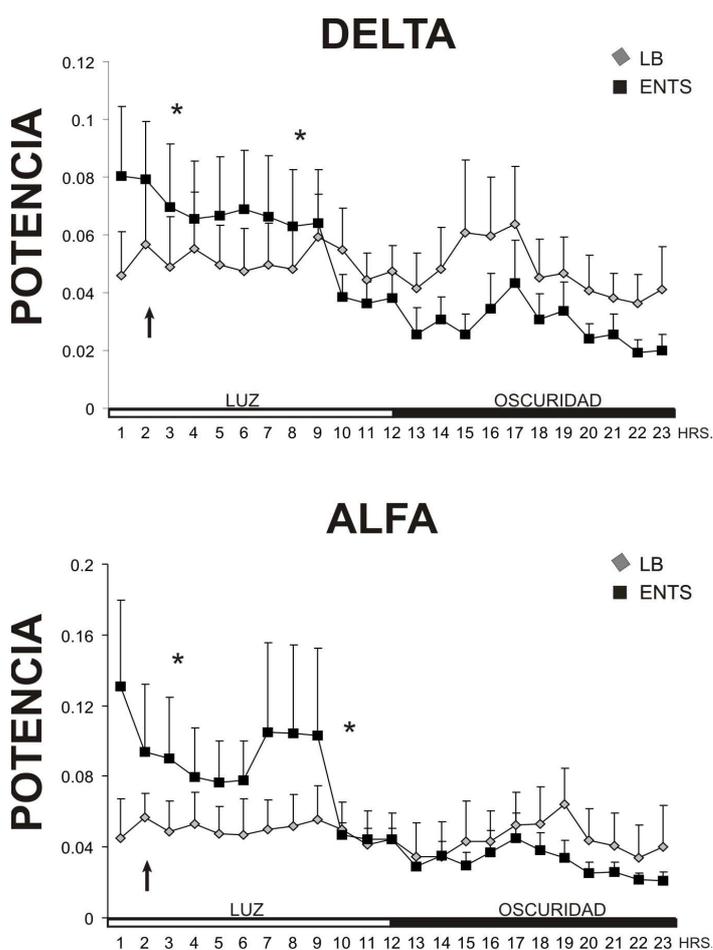


Figura 8.25. Efecto de la ENTS sobre la densidad espectral normalizada de la banda delta y alfa de la amígdala izquierda en intervalos de una hora de registros continuos de 23 hrs (valores promedio \pm error estándar). * LB vs ENTS ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). Las flechas indican la hora de la manipulación experimental (simulación y ENTS).

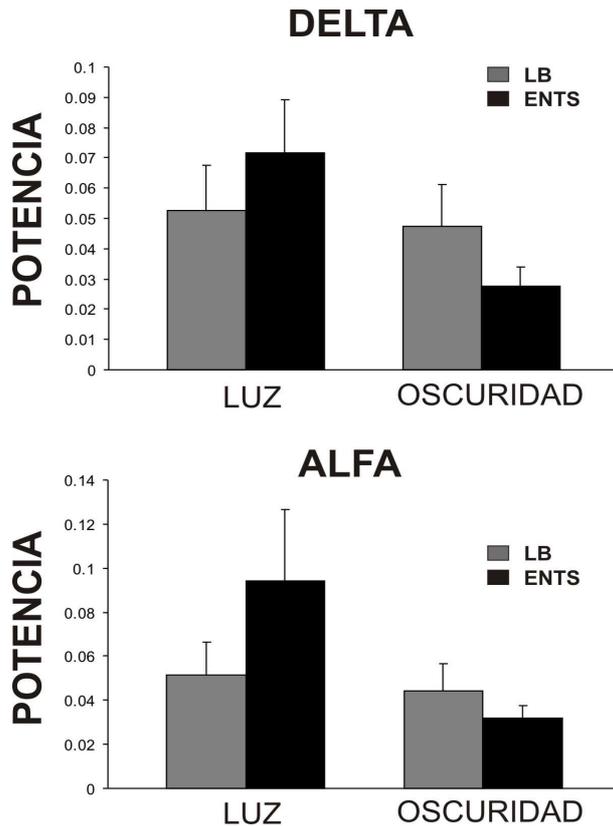


Figura 8.26. Efecto de la ENTs sobre la densidad espectral normalizada de la AMGc izquierda durante los periodos de luz (1-12 horas) y oscuridad (12-23 horas). Valores promedio \pm error estándar.

8.2.3. EFECTO DE LA ENTs SOBRE DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA

Así como en la densidad espectral de las estructuras registradas, el análisis de la distribución temporal del ciclo sueño-vigilia mostró que la ENTs provoca efectos transitorios a lo largo de las 23 horas de registro, sin embargo, dichos efectos fueron sutiles y se presentan principalmente en el porcentaje (figura 8.27.) y tiempo total (figura 8.28) de cada una de las fases. En las figuras figura 8.27. y 8.28. se puede observar, que el porcentaje y tiempo total de vigilia aumenta con la ENTs en las primeras siete horas de registro; por su parte la fase MOR incrementa sus valores en comparación a la LB a partir de la septima hora de registro, con algunos alti-bajos. Las fases de SOL I y SOL II presentaron valores menores que los de la LB.

PORCENTAJE

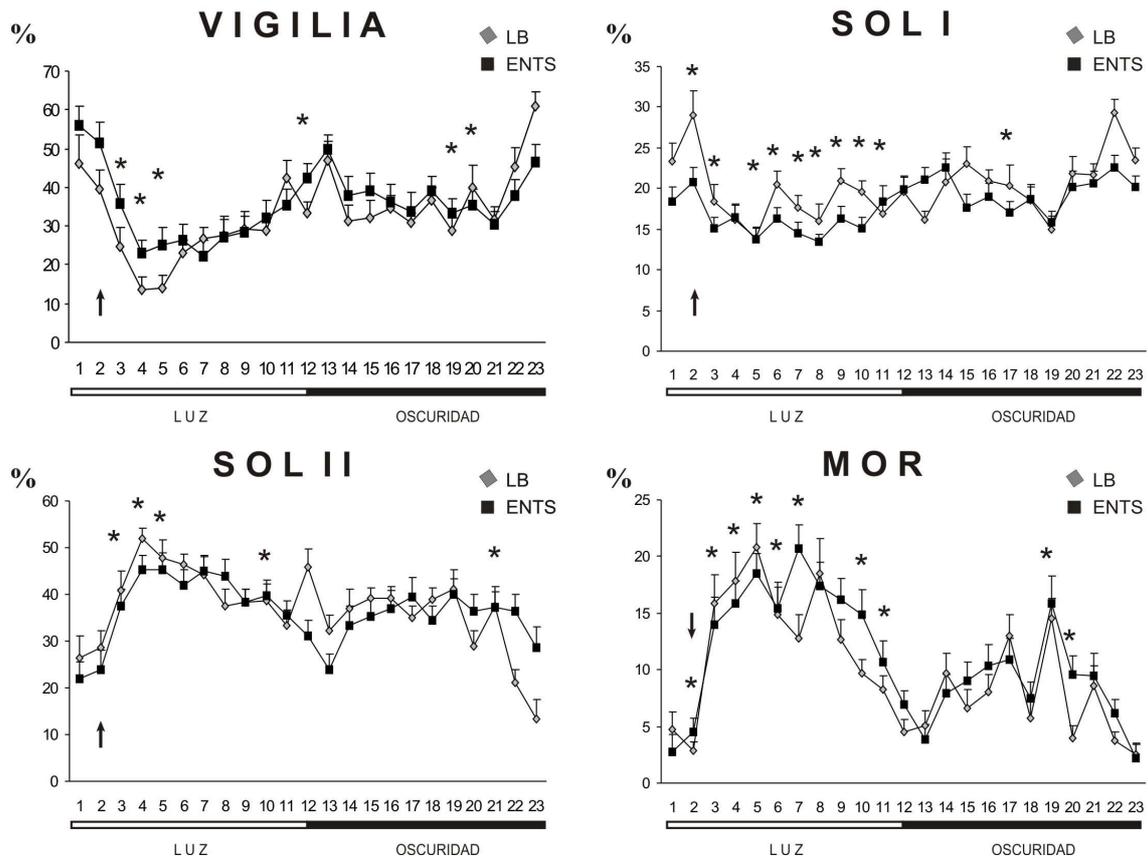


Figura 8.27. Efecto de la ENTS sobre el porcentaje de las fases del ciclo sueño vigilia del gato en intervalos de una hora en 23 horas de registro continuas. Valores promedio \pm error estándar. * LB vs ENTS ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). Las flechas indican la hora de la manipulación experimental (simulación y ENTS).

Los análisis de intervalos de seis horas, presentaron que la ENTS produce una reducción estadísticamente significativa del número de fases, porcentaje y tiempo total de las fases SOL I y SOL II en diferentes periodos o intervalos del día. Por el contrario, la fase MOR presentó un aumento estadísticamente significativo en el número de fases y porcentaje en el intervalo de 6 a 12 horas; la vigilia por su parte muestra algunos incrementos en la duración promedio, porcentaje y tiempo total en diversas horas de registro (ver Tabla 8.1.).

TIEMPO TOTAL

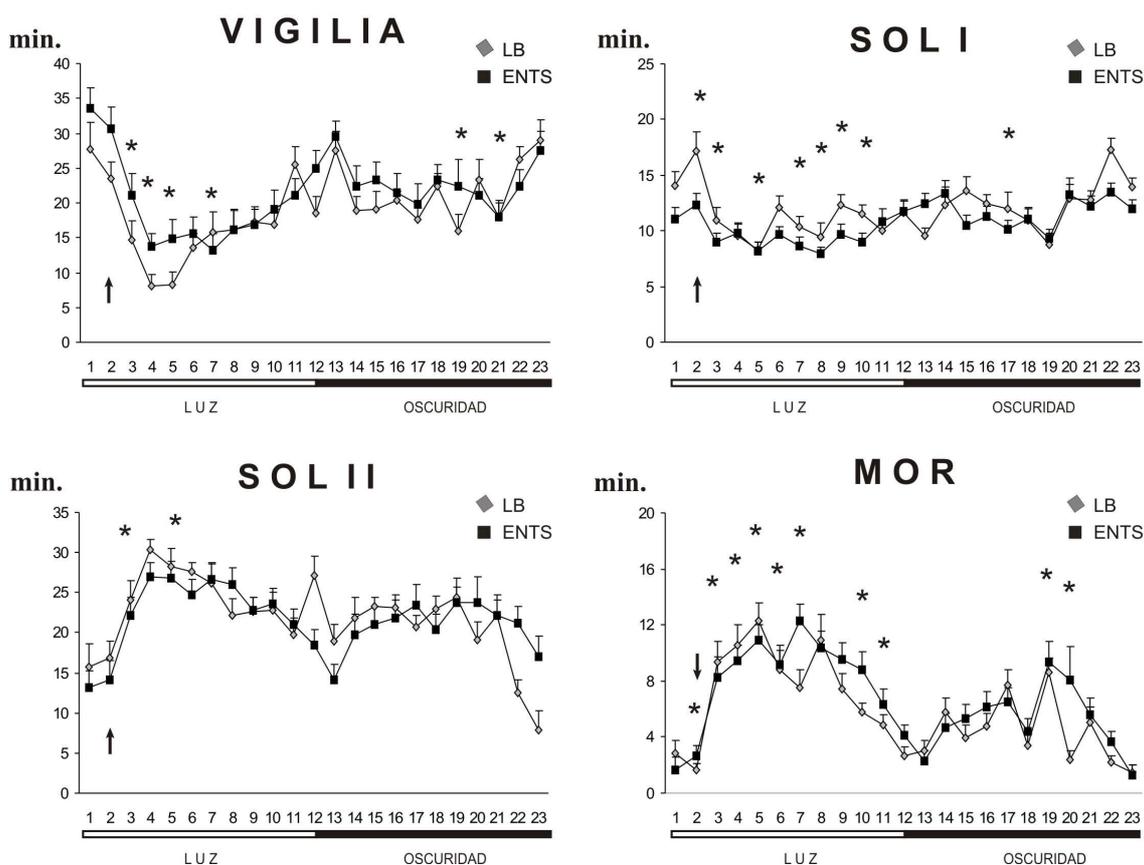


Figura 8.28. Efecto de la ENTS sobre el porcentaje de las fases del ciclo sueño vigilia del gato en intervalos de una hora en 23 horas de registro continuas. Valores promedio \pm error estándar. * LB vs ENTS ANOVA con medidas repetidas de un factor ($p < 0.05$). Las flechas indican la hora de la manipulación experimental (simulación y ENTS).

En cuanto al análisis de 23 horas, la ENTS provocó un aumento estadísticamente significativo en los valores del número de fases (LB 33.5 ± 8.12 vs ENTS 39.17 ± 1.72 ; $p=0.017$), porcentaje (LB 9.38 ± 5.88 vs ENTS 11.32 ± 3.97 ; $p=0.003$) y tiempo total (LB 129 ± 8.12 vs ENTS 156.22 ; $p=0.003$) de la fase MOR (figura 8.29.). Dicho aumento del sueño MOR tuvo lugar principalmente durante los periodos de luz y las diferencias entre la LB y la ENTS fueron estadísticamente significativas (figura 8.30.). Cabe señalar que el aumento en la fase MOR repercutió sobre las fases SOL I y SOL II, ya que dichas fases presentaron una disminución en los valores del porcentaje y tiempo total al aplicar la ENTS (figura 8.31.).

Intervalos de seis horas.	VIGILIA		SOL I		SOL II		MOR	
	LB	ENTS	LB	ENTS	LB	ENTS	LB	ENTS
Número de fases								
1-6	7.02±3.99	6.87±4.55	10.23±3.24	8.67±4.21*	6.89±1.28	5.89±2.23*	2.07±0.86	1.56±0.60
6-12	6.20±2.60	6.19±2.74	9.65±2.10	8.07±2.35*	6.70±1.42	6.31±1.71	1.90±0.55	2.04±0.42*
12-18	7.10±2.38	6.61±2.42*	10.0±3.81	8.82±2.57	6.99±2.33	6.51±2.62	1.31±0.72	1.60±0.76
18-23	7.58±3.12	7.12±2.79	10.43±3.28	9.74±2.90	5.70±2.29	6.71±2.41	1.08±0.62	1.52±0.60
Duración Promedio								
1-6	2.31±1.11	4.22±2.77*	1.22±0.34	1.35±0.47	3.87±1.28	4.61±2.45	2.70±1.21	3.34±1.04
6-12	3.24±1.03	3.45±1.45	1.18±0.38	1.30±0.42	4.28±1.72	4.39±1.55	3.19±1.44	3.71±0.90
12-18	3.73±1.76	4.74±2.95	1.26±0.40	1.44±0.57	3.61±1.29	3.56±1.34	2.66±1.04	2.52±0.99
18-23	3.58±1.71	3.91±1.90	1.40±0.54	1.34±0.42	3.06±1.34	3.74±1.16	2.42±1.53	2.96±1.09
Porcentaje								
1-6	26.87±13.46	36.28±14.38	20.25±4.39	16.79±3.55*	40.38±10.51	35.93±11.32	12.84±6.39	11.63±4.46
6-12	30.79±14.87	31.25±12.25	18.45±5.05	16.29±2.98	39.64±13.23	38.99± 9.74	11.06±4.99	13.91±3.72*
12-18	35.42±8.71	39.25±12.58	20.74±8.86	19.28±4.56	36.83±8.43	34.05±11.98	8.03±2.87	8.26±3.76
18-23	41.34±10.47	36.67±12.02*	22.33±3.37	19.90±3.67	28.35±8.61	35.75±11.73*	6.70±4.34	9.00±3.89
Tiempo total								
1-6	15.97± 8.00	21.59±8.56	12.02±2.66	9.98 ±2.11*	23.84± 6.22	21.29±6.70	7.59±3.77	6.89±2.63*
6-12	18.38± 8.65	18.52±7.24*	10.91±2.99	9.65±1.74	23.46± 7.90	23.13±5.82	6.54±2.94	8.25±2.22
12-18	20.95±4.90	23.25±7.40	11.80±4.36	11.43±2.71	21.79±5.05	20.20±7.16*	4.75±1.70	4.90±2.20
18-23	21.32±9.21	22.28±8.41	13.20±1.97	12.03±2.41	17.12±5.49	21.58±6.72	3.97±2.58	5.69±3.42

Tabla 8.1. Efecto de la ENTS sobre las fases del ciclo sueño-vigilia en intervalos de seis horas durante 23 horas de registro. Valores promedio ± error estándar. * LB vs ENTS; *t* de student (*p* < 0.05).

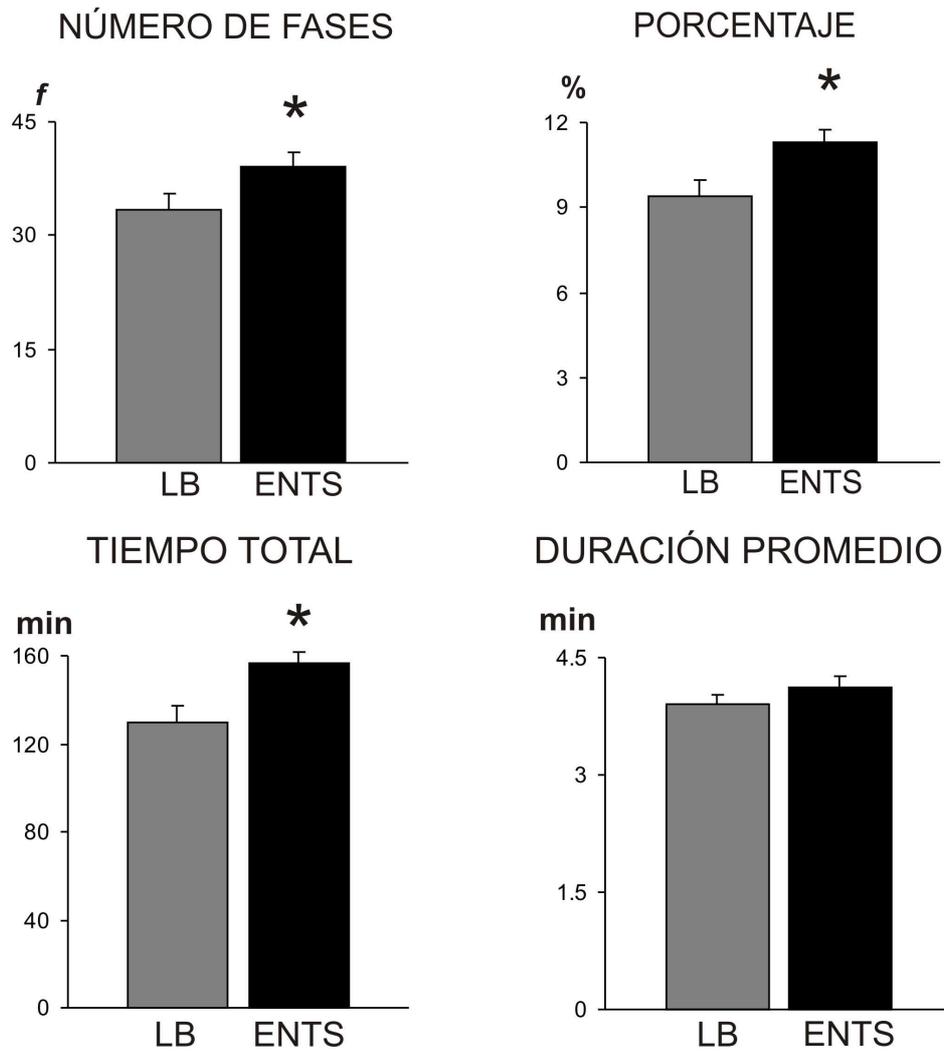


Figura 8.29. Efecto de la ENTS sobre el número de fases, porcentaje, tiempo total y duración promedio de la fase MOR en 23 horas de registro. Valores promedio \pm error estándar * LB vs ENTS; *t* de student ($p < 0.05$).

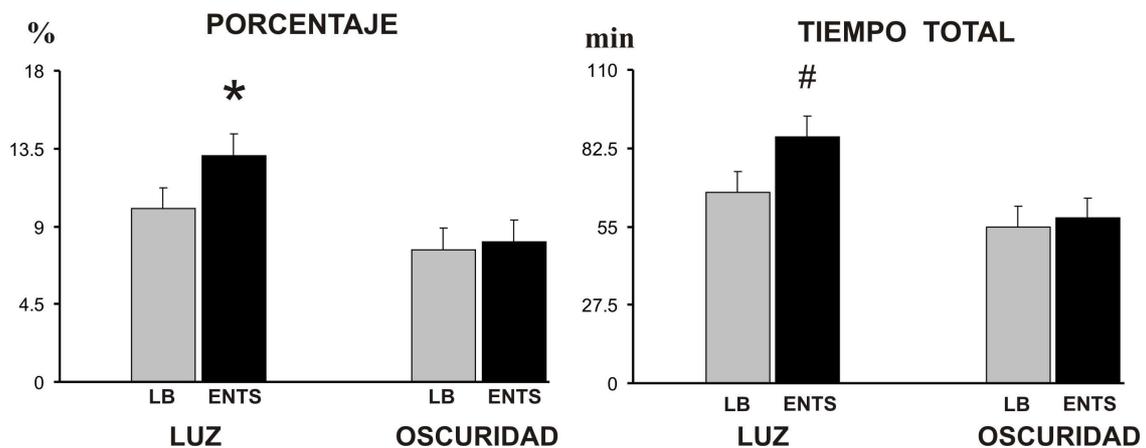


Figura 8.30. Efecto de la ENTS sobre el porcentaje y el tiempo total de la fase MOR durante los periodos de luz-oscuridad. * LB 10.01 ± 3.999 vs ENTS 13.11 ± 3.81 , $p = 0.002$; # LB 67.11 ± 26.08 vs ENTS 86.57 ± 25.66 ; $p = 0.001$). Valores promedio \pm error estándar.

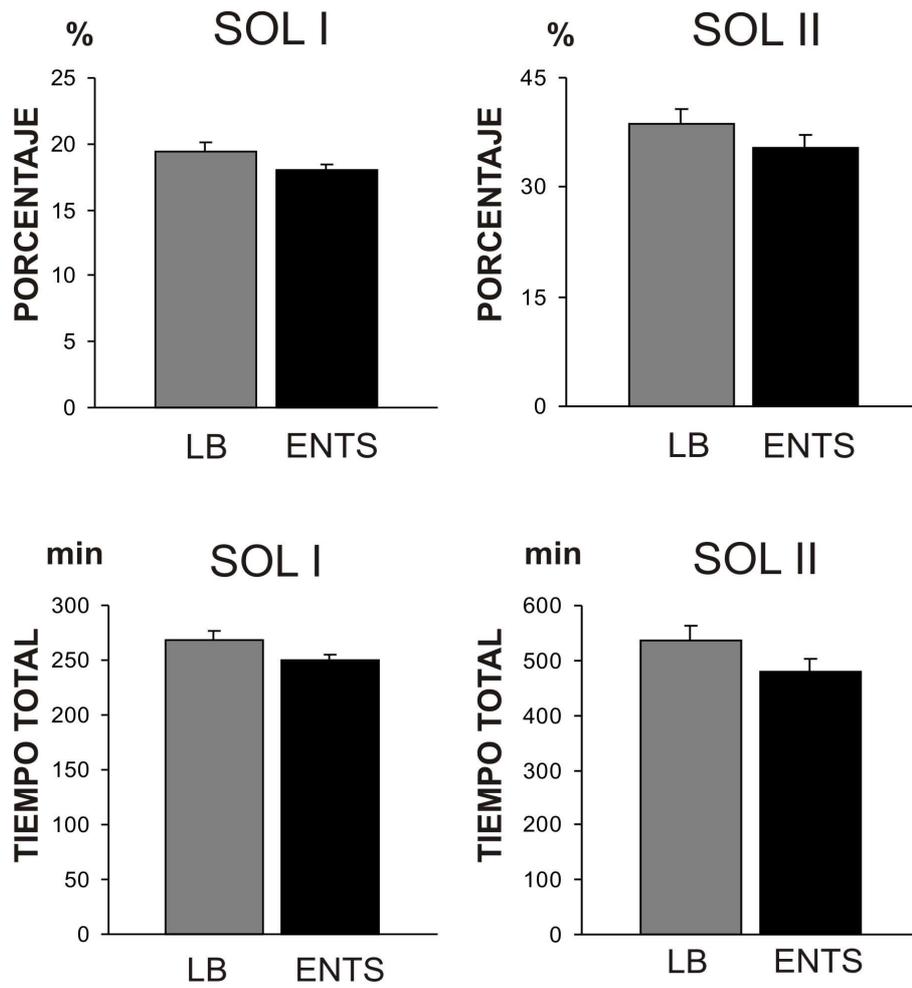


Figura 8.31. Efecto de la ENTS sobre el porcentaje y tiempo total de las fases SOL I y SOL II en 23 horas de registro. Valores promedio \pm error estándar.

9. DISCUSIÓN

9.1. EFECTO DE LA ENV Y ENTS EN EXPERIMENTOS AGUDOS

Los experimentos agudos nos permitieron delimitar los parámetros apropiados de estimulación de la ENV y ENTS en cuanto a Intensidad y frecuencia para evocar la respuesta máxima en el NTS, PBL y AMG.

A pesar de que se ha demostrado que la ENV y ENTS provocan profundos efectos sobre la actividad neuronal de amplias regiones del cerebro, no se ha logrado establecer cuales son los parámetros óptimos de estimulación para producir efectos anticonvulsivos, antidepresivos y sobre la actividad EEG cortical y subcortical.

Los resultados de nuestro trabajo demuestran que la intensidad óptima para producir respuestas evocadas de máxima amplitud en el eje anatómico Vagal-Solitario-Parabraquial-Amigdalino se requieren de 2.8 a 3.5 Voltios (2.8-3.5 mA para la ENV (con una unidad de aislamiento PSIU6 en escala de 1-15 μ A) y para la ENTS de 300 a 500 μ A (con unidad de aislamiento GRASS PSIU6 en escala de .1-1.5 mA).

Dichas intensidades de estimulación concuerdan con reportes en la literatura, ya que se ha descrito que en el gato frecuencias de 70 Hz con intensidades mayores de 3 voltios producen desincronización del EEG al igual que frecuencias 20 a 50 Hz y 10 voltios; pero con intensidades menores de 3 voltios y 70 Hz la estimulación produce sincronización EEG (Chase y Nakamura, 1968).

En lo concerniente a la actividad multiunitaria, observamos que la ENV a 30 Hz, pulsos de 0.5 ms e intensidad menor a 4 voltios (4.0 mA); así como también la ENTS (60 Hz, 0.5 ms, < 500 μ A) son capaces de provocar un aumento en la actividad multiunitaria del nPBL y AMGc, que incluso puede llegar a perdurar por varios minutos. Dichos efectos podrían ser atribuidos al efecto excitador del NTS hacia el nPBL por medio de una excitación glutamatérgica, mientras que la respuesta en el AMGc sería por medio de la acción de NA (Shihara et al., 1999; Granata y Kitai, 1989; Duan et al., 1994; Takeuchi et al., 1983; Halsell, 1998).

De esta manera se puede concluir que la ENV y ENTS aumenta de forma aguda la actividad sináptica del nPBL y las estructuras y áreas del sistema límbico, específicamente la AMGc, dependiendo de la intensidad de estimulación empleada.

Cabe señalar que a partir de estos experimentos, se logró determinar que ambas frecuencias de estimulación fueron efectivas para activar el circuito neuronal estudiado, así como la intensidad de estimulación adecuada para producir respuestas excitatorias a nivel central. A partir de esto, se planificaron los experimentos crónicos, donde se determinó emplear una frecuencia de estimulación de 30 Hz, pulsos de 0.5 ms con intensidad entre 300 y 500 μ A, con trenes de estimulación de un minuto.

Debido a que la ENTS provoca un efecto de larga duración sobre los núcleos registrados en los experimentos agudos, dio lugar a analizar hora por hora los efectos sobre la densidad espectral de la actividad EEG cortical y el ciclo sueño-vigilia.

9.2. EFECTOS DE LA ENTS EN GATOS CON LIBERTAD DE MOVIMIENTO (EXPERIMENTOS CRÓNICOS)

9.2.1. EFECTO DE LA ENTS SOBRE CONDUCTAS DE TIPO VEGETATIVO EN GATOS CON LIBERTAD DE MOVIMIENTO

Las respuestas vegetativas observadas corresponden con las reportadas en la literatura (Magdaleno-Madrigal, et al, 2002; 2010) y cabe señalar que sólo se presentaban durante los periodos de estimulación.

Las contracciones abdominales y el comer compulsivo, podrían ser inducidas porque el NTS es capaz de activar las proyecciones eferentes parasimpáticas del NV, que proyectan hacia el esófago, estómago e intestinos (Brodal, 1981; Foley y DuBois, 1937; Woodbury y Woodbury, 1990). La deglución y el lengüeteo son conductas que se presentarían por la activación del NAMB que controla los músculos de la fonación y la deglución (Carpenter y Pines, 1957), y el reflejo de vómito se debería a la activación del área postrema a través del NTS (Vigier y Portailier, 1979). El parpadeo, los movimientos

oculares en salvas fijar la mirada hacia arriba serían efecto de la activación del núcleo motor ocular común, a través de las aferentes centrales del NTS (Anden, 1966).

Sin embargo, es notorio que la conducta de los animales durante la estimulación va declinando conforme avanzan los periodos de ENTS, lo cual también se ha reportado en estudios clínicos, cuando se utiliza la ENV en pacientes con epilepsia refractaria, ya que durante el periodo de estimulación presentan efectos secundarios, como parestesias, tos e incluso dolor, los cuales también desaparecen con el tiempo (Schachter, 2002; Ben-Menachem, 2001; Morris et al., 1999).

Se ha reportado que la ENTS produce bradicardia, respuestas variables de la presión arterial y efectos respiratorios (Thomas y Calaresu, 1974). La bradicardia es provocada debido a la activación de fibras aferentes e interneuronas que proyectan al NAMB.

Una relación precisa entre la evocación de la conducta inducida por la ENTS con la eficacia de la misma no ha sido determinada en algún otro estudio. Por lo tanto, en nuestro trabajo decidimos fijar el umbral de estimulación (en cuanto a la intensidad) de acuerdo a la intensidad obtenida en los experimentos agudos previamente descritos (300-500 μ A), además de la presencia de un despliegue de conductas muy evidentes de inicio, ya que se presenta un fenómeno similar a la habituación, ya que coincide con los criterios señalados por Thompson y Spencer (1966) que son una disminución en respuesta con la estimulación repetitiva, aumenta la habituación cuando se incrementa las ocasiones que se aplica la ENTS y a, veces, se recuperan las respuestas entre las estimulaciones.

9.2.2. EFECTOS DE LA ENTS SOBRE LA ACTIVIDAD EEG CORTICAL

El aumento de la potencia de la actividad teta, beta, alfa y HS provocados por la ENTS sugieren que la estimulación es capaz de modular la actividad neuronal de la corteza cerebral por medio de los sistemas de neurotransmisión noradrenérgico y serotoninérgico, que tienen la capacidad de modificar la dinámica del circuito tálamo-cortical.

El NTS puede actuar sobre ambos sistemas de neurotransmisión, a través de sus proyecciones eferentes hacia el LC (Fornai, 2011) y el NDR,

(Hebert y Saper, 1992), por lo cual es posible que la ENTS facilite la excitación de sus neuronas y de esta manera facilitar la liberación de NA y 5-HT en las terminales sinápticas del tálamo y la corteza.

Dicha aseveración se apoya en resultados obtenidos con el uso de la ENV en ratas y pacientes; asumiendo que los efectos de la ENV a nivel del sistema nervioso central se producen por la acción del NTS, ya que es donde se recibe la mayor parte de fibras aferentes del NV.

Se ha demostrado en ratas, que durante la ENV las neuronas del LC y el NRD aumentan su patrón de disparo, así como la liberación de NA en la corteza, el hipocampo (Roosevelt et al., 2006) y la amígdala (Hassert, et al., 2004).

Dicho aumento de NA durante la estimulación del NTS puede ser responsable del aumento de la actividad beta (asociada con procesos de atención) y mirada fija de nuestros animales, ya que la hiperactividad del LC en ratas y monos ocurre asociada con respuestas conductuales que orientan al animal hacia el entorno (Aston-Jones et al., 1991; Foote et al., 1991).

En cuanto al papel de la 5-HT, estaría más relacionada con el aumento de la actividad teta, alfa y HS, ya que es capaz de inhibir a las neuronas talamo-corticales (Sakai y Crochet, 2000) y excitar a las neuronas gabaérgicas del NRT (McCormick y Wang, 1991), del mismo modo que a las neuronas locales gabaérgicas del tálamo y la corteza cerebral (Monckton y McCormick, 2002; Sheldon y Aghajanian, 1990), que dan lugar a la aparición de ondas lentas en el EEG (Sakai y Crochet, 2001a).

Una evidencia experimental que apoya al menos parcialmente que el NTS puede modificar la dinámica neuronal del tálamo, se basa en resultados obtenidos por medio de PET (Henry et al, 1998), SPECT (Vonck et al., 2002; Van Laere et al., 2002, 2008;) fRMF (Narayanan et al., 2002) en pacientes y en ratas tratados con ENV (Dedeurwaerdere; 2005); donde se pone en evidencia que la ENV aplicada de manera aguda o crónica tiene efectos directos sobre la actividad metabólica de varias áreas límbicas, corticales y en especial del tálamo tanto en términos de un aumento y disminución del FSC y metabolismo de glucosa.

Por otra parte, nuestro estudio muestra que la ENTS aplicada de manera aguda (sólo diez ocasiones durante una hora) es capaz de provocar un efecto sincronizador de larga duración ya que los efectos a pesar de ser discretos, persisten por al menos doce horas. Esto concuerda con los hallazgos de Magnes y cols. (1961), que reportaron que la NTS es capaz de incrementar la sincronización EEG más allá de los periodos de estimulación cuando un animal se encuentra relajado y tranquilo, como en el caso de nuestros animales. Dichos resultados, ponen en evidencia la necesidad de realizar estudios de larga duración.

Al observar los efectos que causa la ENTS en cada una de las cortezas pre-frontales, se puede apreciar que la ENTS provoca diferentes efectos en cuanto a la potencia de la actividad EEG. En el hemisferio izquierdo (ipsilateral al sitio de estimulación) la potencia de las bandas teta, beta y alfa presentaron un aumento en comparación a la LB; en contraste, en la Cx Pf derecha, las bandas que presentaron cambios fueron las de rango delta y HS. Dichos cambios son evidentes principalmente en los análisis de hora por hora y 23 horas. Este resultado fue inesperado, pero muy importante ya que nos sugiere que la ENTS del lado izquierdo provoca un efecto de mayor magnitud en cuanto a la potencia de la Cx Pf izquierda. Este efecto podría considerarse como una “asimetría” o “baja coherencia” EEG interhemisférica provocada por la ENTS.

Cordeau y Mancia (1959) fueron los primeros en describir y asignar a este fenómeno el término: “asimetría interhemisférica”. Ellos reportaron que hemisecciones pretrigeminales mediopontinas en gatos bajo condiciones crónicas de experimentación provocan una asimetría cerebral: en estos animales la corteza ipsilateral a la sección presentaba actividad EEG de bajo voltaje, mientras que el hemisferio contralateral mostraba una gran tendencia a la desincronización. A partir de este resultado ellos postularon la existencia de estructuras sincronizadoras a nivel bulbar, las cuales pueden actuar directamente sobre neuronas corticales o sobre el SRAS o sobre el NRT.

9.2.3. EFECTOS DE LA ENTS SOBRE EL CICLO SUEÑO-VIGILIA

El efecto de la ENTS sobre el sueño, podría atribuirse al papel de los sistemas de neuromodulación (NA, 5-HT y Ach) sobre las estructuras encargadas de la generación del sueño, como son el circuito tálamo-cortical, el hipotálamo, la AMG y el PPT a partir de las proyecciones del NTS hacia el LC y el nPBL.

Los resultados demuestran que la ENTS provoca un aumento en los valores del tiempo total y porcentaje de la vigilia durante seis horas a partir del inicio de la estimulación y por otra parte, y quizás el hallazgo mas importante fue el aumento del porcentaje y tiempo total de la fase MOR al final de las 23 horas de registro, hasta ahora el papel de la estimulación eléctrica y química del NTS ha sido asociada principalmente con los mecanismos fisiológicos del SOL; sin embargo, existen evidencias experimentales que concuerdan y apoyan los resultados del presente trabajo.

En lo concerniente al aumento de la vigilia durante las primeras horas de registro, sugieren que la ENTS puede influir sobre los sistemas promotores de la vigilia del SRAS a través de las proyecciones del nPBL hacia el LC, el NDR, el tegmento laterodorsal y el TPP; el cual a su vez posee conexiones polisinápticas con células glutamatérgicas del *cerebro medio*, y dopaminérgicas de la SNc y del área tegmental ventral (Saper y Loewy, 1982). Las proyecciones de estos sistemas de neurotransmisión pontino y mesencéfalo viajan dorsalmente para activar el sistema tálamo-cortical, así como ventralmente para activar los sistemas hipotálamo-corticales y basal-corticales (Datta, 1995; García- Rill, 2002; Sakai y Crochet, 2003), que favorecen la presencia de la vigilia

En cuanto al aumento del sueño MOR provocado por la ENTS, coincide con estudios publicados previamente por nuestro grupo de trabajo, en los que se describe un aumento de sueño SOL y MOR, así como de la densidad de la actividad PGO en gatos tratados con ENV (Fernández-Guardiola; Valdés-Cruz et al, 2002, 2008). Por otra parte, el NTS tiene proyecciones colinérgicas y de aminoácidos excitadores hacia estructuras que están involucradas con la aparición del sueño MOR (Danguir et al., 1988; Laguzzi et al., 1984; Nosjeau et al., 1987; Puizillout, 1984; Shihara et al., 1999), como el nPBL (Calvo et al.,

1992, 1996; Granatta y Kitai, 1989) y la amígdala (Duan et al, 1994; Halsell, 1998; Takeuchi et al., 1983), que al ser estimuladas por medio de agonistas colinérgicos como el carbacol, producen la aparición inmediata de episodios prolongados de sueño MOR. Además, la microinfusión de carbacol a nivel del NTS provoca un aumento MOR (Shiromani y Fishbein, 1986), que es bloqueado al aplicar antisuero de SOM en el mismo sitio (Danguir y Saint-Hilaire-Kafi, 1988).

A pesar de que la ENT5 no presentó cambios significativos en los valores del SOL I y SOL II, la estimulación fue capaz de modificar la actividad EEG cortical vinculada con las fases tempranas del sueño como la actividad teta y los husos de sueño, que presentaron un aumento en su densidad espectral.

Se ha reportado la importancia del NTS en el SOL (Reinoso-Barbero y De Andrés, 1995). Además, con la estimulación eléctrica a baja frecuencia del NTS aparece actividad lenta en el EEG (Magnes et al., 1961). Y por el contrario, se produce una activación con la destrucción de este núcleo (Bonvallent y Allen, 1963). Sumado a lo anterior, también se ha demostrado que la tasa de disparo de las neuronas del NTS es mayor durante el SOL en comparación con la vigilia y el MOR (Eguchi y Satoh, 1980). Además la administración local de varias sustancias, por ejemplo: 5-HT (Laguzzi et al., 1984), glutamato (Golanov y Reis, 2001), morfina, opiáceos y agonistas de receptores tipo mu o delta (Reinoso-Barbero y De Andrés, 1995) producen sincronización EEG y aumento del SOL.

En este apartado, no se puede omitir la influencia de la 5-HT sobre el sueño, ya que como se ha descrito con anterioridad la ENV provoca un aumento en los niveles de 5-HT después de la estimulación del NV, que es modulado por la acción del LC sobre el NDR, lo cual sugiere que existe una influencia serotoninérgica del NTS a partir del LC, que estaría implicada en el ciclo sueño-vigilia (Nosjean et al., 1987), ya que la destrucción bilateral o eliminación funcional de la región del NTS viene seguida de un estado de insomnio (Bremer, 1977; De Andrés, 1998).

Por el hecho de que en animales como el gato, el ciclo de sueño-vigilia es polifásico (a lo largo del día pasan durmiendo y despertando) y dichas fases

mantienen un patrón, hasta cierto punto, independiente de los periodos de luz y oscuridad, se descarta la posibilidad que los cambios observados en el MOR se deban a un factor circadiano (llamado proceso C en el modelo de los dos procesos de Borbély, 1982) ya que en el gato los periodos de luz y oscuridad sólo actúan como reforzadores de un ritmo endógeno (Valdes-Cruz et al., 1997) el aumento del MOR se debe a un factor homeostático (llamado proceso S) que se va incrementando a medida que se prolonga la vigilia.

El aumento en la potencia de la actividad teta y alfa en la Cx Pf Izquierda y en la banda delta y HS en la corteza derecha, aunado con el aumento del MOR reflejan un cambio en la calidad del sueño que se mantiene aún después de concluir la ENTS, debido a que dicha estimulación produce efectos a largo plazo sobre la actividad EEG y/o sobre los sistemas de neurotransmisión serotoninérgico, noradrenérgico, glutamatérgico y GABAérgico, como sucede con la ENV (Dorr y Debonel, 2006; Hassert et al., 2004; Manta et al., 2007; 2009a; 2009b; Marrosu, 2003; Meurs et al., 2008; Roosevelt et al., 2006).

Después de todo lo anterior, se puede concluir que los efectos de la ENTS sobre la actividad EEG y el sueño MOR se deben a la influencia del NTS sobre el nPBL, que a su vez proyecta al LC, el NDR y la AMG, que son capaces de modular el funcionamiento del NRT y el complejo ventroposterior y las regiones intralaminares del tálamo (Dell y Olson, 1951; Saper y Loewy, 1980) que desempeñan un importante papel en la generación del EEG y la regulación del sueño y la vigilia.

ALCANCES Y PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO

En cuanto a los efectos de la ENTS sobre la conducta de los animales se puede decir que la estimulación no repercute en su comportamiento habitual; lo cual también sucede con pacientes epilépticos y deprimidos tratados con la ENV. Sin embargo, pero deben realizarse otros experimentos encaminados a estudiar los efectos de la ENTS sobre la actividad locomotora y cognitiva, por ejemplo.

Los resultados observados en los experimentos crónicos, son básicamente de carácter fenomenológico, pero que era necesario describir, ya que hasta ahora se desconocía como la ENTS modifica la micro y macroarquitectura de la actividad EEG y del ciclo sueño-vigilia en animales no anestesiados durante 23 horas de registro y a su vez permiten plantear nuevos experimentos con un abordaje farmacológico, aplicando tópicamente en el NTS distintas sustancias que puedan potenciar, revertir o inhibir los efectos encontrados en el presente trabajo.

Un hecho destacable es que la ENTS provoca diferentes efectos en cada hemisferio, lo cual no ha sido descrito hasta la fecha y hacen falta más estudios para esclarecer esto. Además, dicho fenómeno aporta evidencias que coinciden con las propuestas publicadas por nuestro grupo (Magdaleno-Madrigal, et al, 2002; 2010); donde la ENTS aplicada de manera crónica o preventiva, con los mismos parámetros empleados en este trabajo produce un efecto anticonvulsivo en gatos con libertad de movimiento sometidos al modelo de epilepsia experimental llamado "*Kindling*" eléctrico amígdalino, debido a que la estimulación del NTS produce un retardo en el desarrollo de la epileptogénesis que caracteriza a dicho modelo

10. CONCLUSIONES

10.1. EFECTO DE LA ENV Y ENTS EN ANIMALES BAJO CONDICIONES AGUDAS DE EXPERIMENTACIÓN:

En gatos anestesiados, la ENV (30 Hz; pulsos de 0.5 ms y 1.5-3.0 mA) y la ENTS (60 Hz; pulsos de 0.5 ms; 300 y 500 μ A) provocan un efecto excitador de larga duración en la actividad multiunitaria y potenciales de campo de 1Hz en el núcleo parabraquial y el núcleo central de la amígdala que es dependiente de la intensidad de la estimulación.

10.2. EFECTO DE LA ENTS SOBRE LA ACTIVIDAD EEG Y LA DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA EN GATOS CON LIBERTAD DE MOVIMIENTO:

La ENTS provoca respuestas conductuales de tipo vegetativo que pueden ser atribuidas a las proyecciones del NTS hacia el núcleo ambiguo, el área postrema y proyecciones eferentes parasimpáticas del NV, que proyectan hacia el esófago, estómago e intestinos.

La ENTS provoca un efecto sincronizador en la actividad EEG cortical, que facilita un aumento de sueño MOR, esto a partir de las proyecciones eferentes del NTS hacia el al nPBL, LC, NDR que participan activamente en la modulación del sistema tálamo-cortical que se encarga de producir la actividad intrínseca del EEG cortical y dan lugar a los diferentes estados de vigilancia y el ciclo sueño-vigilia.

BIBLIOGRAFÍA

Aghajanian GK., Wang, RY. (1977). Habenular and other midbrain raphe afferents demonstrated by a modified retrograde tracing technique. *Brain Res.*, 122: 229-242.

Aguilar RR. (1993). Teorías básicas de los ritmos biológicos. *Psiquis*, 6: 121-132.

Akert K. (1965). The anatomical substrate of sleep. En: *Sleep mechanisms. Progress in Brain Research*, (Akert, Balli y Schandé, Eds). Elsevier Amsterdam, 18: pp. 9-19.

Alam MN., Szymusiak R., Gong H., King J., McGinty D. (1999). Adenosinergic modulation of rat basal forebrain neurons during sleep and waking: neuronal recording with microdialysis. *J Physiol*, 521: 679-690.

Alam MN., Gong H., Alam, T., Jaganath R., McGinty D., Szymusiak R. (2002). Sleep-waking discharge patterns of neurons recorded in the rat perifornical lateral hypothalamic area. *J Physiol*, 538: 619-31.

Allen WF. (1923). Origin and distribution of the tractus solitarius in the guinea pig. *J. comp. Neurol.*, 35: 171-204.

Anden, N.E., (1966). Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. *Acta Physiol. Scand.* 67, 313-326.

Armstrong DM., Pickel VM., Joh TH., Reis DJ., Miller RJ. (1981). Immunocytochemical localization of catecholamine synthesizing enzymes and neuropeptides in area postrema and medial nucleus tractus solitarius of rat brain. *J. comp. Neurol.*, 196, 505-517.

Armstrong DM., Ross CA., Pickel VM., Joh TH., Reis DJ. (1982). Distribution of dopamine-, noradrenaline-, and adrenaline-containing cell bodies in the rat medulla oblongata: demonstrated by the immunocytochemical localization of catecholamine biosynthetic enzymes. *J. comp. Neurol.* 212, 173-187.

Aserinsky E., Kleitman N. (1953). Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science*, 118: 273-274.

Aston-Jones G, Chiang C, Alexinsky T. (1991). Discharge of noradrenergic locus coeruleus neurons in behaving rats and monkeys suggests a role in vigilance. *Prog Brain Res.*, 88: 501-520.

Ayala GF. (1976). Actividad ponto-geniculo-occipital (PGO) durante el sueño del gato. *Ser. Biol. Exp.*, 1: 5-20.

Ayala GF. (1983). Filogenia del sueño: Los mamíferos. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx. (Suplemento)*, 32: 67-82.

Baghdoyan HA., Rodrigo-Angulo ML., McCarley RW., Hobson JA. (1984). Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. *Brain Res.*, 306: 39-52.

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

Beckstead RM., Morse JR., Norgren R. (1980). The nucleus of the solitary tract in the monkey: projections to the thalamus and brainstem nuclei. *J. comp. neurol.* 90, 259-282.

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

Ben-Menachem E., Manon-Espaillet R., Ristanovic R., Ristanovic R., Bertram EH., Mangan PS., Zhang D., Scott C., Williamson JM. (2001). The midline thalamus: alterations and a potential role in limbic epilepsy. *Epilepsia*, 42: 967—978.

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

Berger R.J., Oswald, I. (1962). Eye movements during active and pasive dreams. *Science*, 137:601.

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

Berridge CW, Waterhouse BD. (2003). The locus coeruleus—noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Rev.*, 42(1):33-84

Bertrand F., Hugelin A. (1971). Respiratory synchronizing function of nucleus parabrachialis medialis: Pneumox mechanisms. *J. Neurophysiol.*, 34: 189-207.

Bertrand F., Hugelin A., Vibert JF. (1973). Quantitative study of the anatomical distribution of respiratory related neurons in the pons. *Expl. Brain Res.*, 16: 383-399.

Bonvallet M, Allen MB Jr.. (1963). Prolonged spontaneous and evoked reticular activation following discrete bulbar lesions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 15:969-88.

Borbély AA. (1982). A two process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol.* 1982;1(3):195-204.

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

Bremer F. (1960). Analyses des processus corticaux de l'éveil. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., Supl.*, 13: 125-134.

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

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

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

Brodal A. (1981). *Neurological anatomy in relation to clinical medicine.* 3rd Ed. New york, Oxford University Press.

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

Brooks DC., Gershon MD. (1971). Eye movement potentials in the oculomotor and visual system: A comparision in reserpine induce waves with those present during wakefulness and rapid eye movement sleep. *Brain. Res.*, 27: 223-239.

Burnstock G., Hoyle CH. (1992). *Autonomic neuroeffector mechanisms.* Chur: Harwood Academic Publisher.

Bystrzycka EK., Nail BS. (1985). Brain stem nuclei associated with respiratory, cardiovascular and other autonomic functions. En: The rat nervous system. Vol.2. Paxinos, G. (ed.) Academic Press. Sydney. pp 95-110.

Callaway CW., Lydic R., Baghdoyan HA., Hobson, JA. (1987). Pontogeniculooccipital waves: spontaneous visual system activity during rapid eye movement sleep. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 7: 105-149.

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

Calvo JM. (1991). Mecanismos del sueño. *Gaceta Médica de México*, vol. 127 (No. 3).

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

Calvo JM., Datta S., Stickgold R., Quattrochi J., Hobson JA. (1991). Prolonged REM sleep enhancement following carbachol microinjection in the peribrachial region of the dorsolateral pons. *Sleep Res.*, 20: 16 (Abstract).

Calvo JM., Fernández Mas R. (1991). Amygdaloid kindling during wakefulness and paradoxical sleep in the cat. 2. Sleep organization changes produced by kindling development. *Epilepsy Res.* 9: 175-183.

Calvo JM., Simón Arceo K., Fernández Mas R. (1996). Prolonged enhancement of REM sleep produced by carbachol microinjection into the amygdala. *Neuroreport.*, 7: 577-580.

Car A., Jean A., Roman C. (1975). A pontine primary relay for ascending projections of the superior laryngeal nerve. *Exp Brain Res.*, 22: 197-210.

Carus-Cadavieco M., deAndrés I. (2012). Adenosine and homeostatic control of sleep. Actions in target structures of the sleep-wake circuits. *Rev Neurol.*, 55(7): 413-420.

Carpenter MB, Pines J. (1957) The rostral bulbar: Anatomical relationships course and terminations in the rhesus monkey. *Anat. Rec.* 128: 171-185.

Cechetto D. (1987). Central representation of visceral function. *Fed Proc.* 46: 17-23.

Chae JH., Nahas Z., Lomarev M., Denslow S., Lorberbaum JP., Bohning DE, George MS. (2003). A review of functional neuroimaging studies of vagus nerve stimulation (VNS). *J Psychiatr Res.*, 37(6):443-455.

Chase MH., Nakamura Y., Clemente C. (1967). Afferent vagal stimulation: neurographic correlates of induced EEG synchronization and desynchronization. *Brain Res.*, 5: 236-249.

Chase MH., Nakamura Y. (1968). Cortical and subcortical EEG patterns of response to afferent abdominal vagal stimulation: neurographic correlates. *Physiol. Behav.*, 3: 605-610.

Chase MH., Serman MB., Clemente CD. (1966). Cortical and subcortical patterns of response to afferent vagal stimulation. *Exp Neurol.*, 16: 36-49.

Chastrette N., Cespuglio R. (1985). Influence of melanocortin derived-peptides on the sleep-waking cycle of the rat. *Neurosci. Lett.*, 62:365-370.

Chastrette N., Cespuglio R., Jouvet M. (1990). Proopiomelanocortin (POMC) derived peptide and sleep in the rat. Part 1. Hypnogenic properties of ACTH derivatives. *Neuropeptides.*, 15: 61-74

Chavel SM., Westerveld M., Spencer S. (2003). Long-term outcome of vagus nerve stimulation for refractory partial epilepsy. *Epilepsy Behav.*, 4(3):302-329.

Cohen MI. (1971). Switching of the respiratory phases and evoked phrenic responses produced by rostral pontine electrical stimulation. *J. Physiol.*, 217: 133-158.

Cordeau JP. and Mancina M. (1959). Evidence for the existence of an electroencephalographic synchronization mechanism originating in the lower brain stem. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 11(3):551-64.

Corning JL. (1882a). Carotid compression and brain rest. Anson DF Randolph & Co, New York.

Corning JL. (1882b). Prolonged instrumental compression of the primitive carotid artery as therapeutic agent. *Medical Record*, 21: 173-174.

Corning JL. (1887). Epilepsy: Its clinical manifestations, pathology, and treatment. (Part 2). *New York Med J.*, 46: 154-158.

Corning JL. (1888). The endermic use of cocaine in the treatment of certain phases of neuralgia. *Intl J Surg Antiseptics*, 1: 13-14.

Cottle MK. (1964). Degeneration studies of primary afferents of IXth and Xth cranial nerves in the cat. *J. comp. Neurol.* 122, 329-343.

Crill, WE., Reils DJ. (1968). Distribution of carotid sinus and depressor nerves in brain stem. *Am J Physiol.*, 214: 269-276.

Dahlström A., Fuxe K. (1964). Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. *Acta physiol, scand.*, 62, Suppl. 232: 1-55.

Danguir J, De Saint-Hilaire-Kafi S. (1988a). Somatostatin antiserum blocks carbachol-induced increase of paradoxical sleep in the rat. *Brain Res Bull.* 1988 Jan;20(1):9-12.

Danguir J, De Saint-Hilaire-Kafi S. (1988b). Scopolamine-induced suppression of paradoxical sleep is reversed by the somatostatin analogue SMS 201-995 in rats. *Pharmacol Biochem Behav.*, 30(2):295-7.

Datta S. (1995). Neuronal activity in the peribrachial area: relationship to behavioral state control. *Neurosci. Biobehav. Rev.* Spring. 19(1): 67-84.

Datta S. (1997). Cellular basis of pontine ponto geniculo occipital wave generation and modulation. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 17(3):341-65.

Datta S. (2010). Cellular and chemical neuroscience of mammalian sleep. *Sleep Med.* 11(5):431-440

Datta S., Kumar, VM., China GS. Singh B. (1985). Tonic activity of medial preoptic norepinephrine mechanism for body temperature maintenance in sleeping and awake rats. *Brain Res Bull*, 15: 447-451.

Datta S., Kumar VM., Chhina GS., Singh B. (1988). Interrelationship of thermal and sleep-wakefulness changes elicited from the medial preoptic area in rats. *ExpNeurol*, 100: 40-50.

Datta S., Calvo J.M., Quattrochi J., Hobson JA. (1991). Long term enhancement of REM sleep following cholinergic stimulation. *Neuroreport.*, 2: 619-622.

Datta S., Calvo J.M., Quattrochi J., Hobson JA. (1992). Cholinergic microstimulation of the peribrachial nucleus in the cat. 1. Immediated and prolonged increase in ponto-geniculo-occipital waves. *Arch. Ital. Biol.*, 130: 263-284.

Datta S., Maclean RR. (2007). Neurobiological mechanisms for the regulation of mammalian sleep-wake behavior: reinterpretation of historical evidence and inclusion of contemporary cellular and molecular evidence. *Neurosci Biobehav Rev*; 31:775-824.

De Andrés I. (1998). Ciclo vigilia-sueño, En: Delgado JM, Ferrús A, Mora F, Rubia JF. (Eds.). *Manual de Neurociencia*, España. Ed. Síntesis, 801-816

De Andrés I., Garzón M., Reinoso-Suárez, F. (2011). Functional anatomy of non-REM Sleep. *Front Neurol.*, 2:70.

Deboer T., Vansteensel MJ., Detari L., Meijer, JH. (2003). Sleep states alter activity of suprachiasmatic nucleus neurons. *Nat Neurosci*, 6: 1086-1090.

Dedeurwaerdere S, Cornelissen B, Van Laere K, Vonck K, Achten E, Slegers G, Boon P. (2005). Small animal positron emission tomography during vagus nerve stimulation in rats: A pilot study. *Epilepsy Research.*, 67;133-141

DeGiorgio CM, Fanselow EE, Schrader LM, Cook IA. (2011). Trigeminal nerve stimulation: seminal animal and human studies for epilepsy and depression. *Neurosurg Clin N Am.* 2011 Oct; 22(4):449-56,

Dell P., Olson P. (1951a). Projections thalamiques corticales et cerebelluses des afferences viscerales vagues. *C R Soc Biol (Paris)*, 145: 1084-1088.

Dell P., Olson P. (1951b). Projections secondaires mesencephaliques, encephaliques et amygdaliennes des afferences viscerales vagues. *C R Soc Biol (Paris)*, 145: 1088-1091.

Dement, WC. y Kleitman, N. (1957). The relation of eye movement during sleep to dream activity. *J. Exp. Psychol.*, 53: 339-346.

Dement WC., Wolpert EA. (1958). The relation of eye movements, body motility and external stimuli to dream content. *J. Exp. Psychol.*, 55: 543-553.

Dement WC., Ferguson J., Cohen H., Barchas J. (1970). Non chemical methods and data using a biochemical model: the REM quanta. En: Mandell, A. Ed. *Some current issues in psychochemical research strategies in man.*, New York, Academic press., pp. 275-325.

Dement WC., Wolpert EA. (1958). The relation of eye movement, body motility and external stimuli to dream content. *J. Exp. psychol.*, 55: 543-553.

Diaz JD., Vladimir Z., Thomas S., Christopher M., DeGiorgio MD. (1996). Vagus nerve stimulation activates central nervous system structures in epileptic patients during PET H2 15O blood flow imaging. *Neurosurgery*, 39: 426-431.

Dietrich WD., Lowry OH, Loewy AD. (1982). The distribution of glutamate, GABA and aspartate in the nucleus tractus solitarius of the cat. *Brain Res.*, 237, 254-260.

Diz DI., Barnes KL., Ferrario CM. (1987). Functional characteristics of neuropeptides in the dorsal medulla oblongata and vagus nerve. *Fed Proc.*, 46: 30-35.

Dolabela A., Singer W. (1987). The brainstem projection to the lateral geniculate nucleus in the cat: identification of cholinergic monoaminergic elements. *J. Comp. Neurol.*, 259: 92-121

Dorr AE., Debonnel G. (2006). Effect of vagus nerve stimulation on serotonergic and noradrenergic transmission. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 318: 890-898.

Drucker Colin R. (1973). Crossed perfusion of a sleep inducing brain tissue substance in conscious cats. *Brain Res.*, 56: 123-134.

Drucker Colin R., Rojas-Ramírez JA., Vera-Trueva J., Monrroy-Ayala G., Hernández-Peon R. (1970). Effects of crossed perfusion of the midbrain reticular formation upon sleep. *Brain. Res.*, 23: 269-273.

Drucker Colin R., Arankowsky Sandoval G., Prospero Garcia O., Jimenez Anguiano A., Merchant Nancy H. (1990). The regulation of sleep: some considerations on the role of vasoactive intestinal peptide, acetylcholine and sensory modalities. En: M. Mancía y G. Marir (Eds.). *The Diencephalon and Sleep*, New York, Raven Press., pp. 313-330.

Duan YF, Winters R, McCabe PM, Green EJ, Huang Y, Schneiderman N. (1994) Modulation of neuronal firing in the medullary solitary complex by electrical stimulation of the hypothalamic defense and vigilance areas in rabbits. *Brain Res.* 643: 218-226.

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

Dusan Peyrethon D., Peyrethon J., Jouvet M. (1967). Etude quantitative des phénomènes phasiques du sommeil paradoxal pendant et après sa déprivation instrumentale. *C. R. Soc. Biol.*, 161: 2530-2533.

Dusan Peyrethon D., Peyrethon J., Jouvet M. (1968). Suppression élective du sommeil paradoxal chez le chat par alpha-méthyl-dopa. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 162: 116-118.

Easton A., Meerlo P., Bergmann B., Turek FW. (2004). The suprachiasmatic nucleus regulates sleep timing and amount in mice. *Sleep*, 7: 1307-1318.

Eguchi K, Satoh T (1980). Characterization of the neurons in the region of solitary tract nucleus during sleep. *Physiol Behav.*, 24(1):99-102.

Fernández Guardiola A. (1994). Sueño, sueños y ensueños. *Universidad de México*, 518-519.

Fernández Guardiola A. (1998). Dormir y soñar. En: De la Fuente, R. *Neurobiología de la mente*, Fondo de Cultura Económica, pp. 288-306.

Fernández-Guardiola A1, Martínez A, Valdés-Cruz A, Magdaleno-Madrugal VM, Martínez D, Fernández-Mas R. (1999). Vagus nerve prolonged stimulation in cats: effects on epileptogenesis (amygdala electrical kindling): behavioral and electrographic changes. *Epilepsia*. 1999 40(7):822-9.

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

Foley JO., DuBois F. (1937). Quantitative studies of the vagus nerve in the cat. I. The ratio of sensory fibers. *J Comp Neurol.*, 67: 49-97.

Foote SL, Berridge CW, Adams LM, Pineda JA. (1991). Electrophysiological evidence for the involvement of the locus coeruleus in alerting, orienting, and attending. *Prog Brain Res.*, 88:521-532.

Foote SL. (1973). Compensatory changes in REM sleep time of cats during ad libitum sleep and following brief REM sleep deprivation. *Brain Res.*, 54: 261-276.

Foley J., DuBois, F. (1937). Quantitative studies of vagus nerve in cat. I. The ratio of sensory and motor studies. *J Comp Neurol*, 67: 49-67.

Fornai F, Ruffoli R, Giorgi FS, Paparelli A. (2011). The role of locus coeruleus in the antiepileptic activity induced by vagus nerve stimulation. *Eur J Neurosci.*, 33(12):2169-78.

Franco Pérez JE. (2011). Papel de las sinapsis eléctricas en la regulación del ciclo sueño-vigilia de la rata. Tesis doctoral, Facultad de Medicina, Universidad nacional autónoma de México.

Franco-Pérez J, Ballesteros-Zebadúa P., Custodio V., Paz C. (2012). Major neurotransmitters involved in the regulation of sleep-wake cycle. *Rev Invest Clin.*, 64(2):182-91.

Fulwiler CE., Saper CB. (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res.* 319(3):229-259.

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

García-Medina NE., Miranda MI. (2013). Nucleus of the solitary tract chemical stimulation induces extracellular norepinephrine release in the lateral and basolateral amygdala. *Brain Stimul.*, 6(2):198-201

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

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

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

Gerashchenko D., Blanco-Centurion C., Greco MA., Shiromani, PJ. (2003). Effects of lateral hypothalamic lesion with the neurotoxin hypocretin-2-saporin on sleep in Long-Evans rats. *Neuroscience*, 116: 223–235.

Gerashchenko D. y Shiromani PJ. (2004a). Different neuronal phenotypes in the lateral hypothalamus and their role in sleep and wakefulness. *Mol Neurobiol.*, 29: 41–59.

Gerashchenko D., Shiromani PJ. (2004b). Effects of inflammation produced by chronic lipopolysaccharide administration on the survival of hypocretin neurons and sleep. *Brain Res*, 1019: 162–169.

Golanov EV., Reis DJ. (2001). Neurons of nucleus of the solitary tract synchronize the EEG and elevate cerebral blood flow via a novel medullary area. *Brain Res.*, 16; 892(1):1-12.

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

Goodenough D., Lewis H.B. Shapiro, A., Sleser, I. (1965). Some correlates of dream reporting following laboratory awakenings. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 140: 365-373.

Granatta AR, Kitai ST. (1989) Intracellular Study of Nucleus Parabrachialis and Nucleus Tractus Solitarii Interconnections. *Brain Res.*, 492: 281 292.

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

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

Groves DA., Bowman EM., Brown VJ. (2005). Recordings from the rat locus coeruleus during acute vagal nerve stimulation in the anaesthetised rat. *Neurosci. Lett.* 379: 174-179.

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

Gwyn DG., Wolstencroft JH. (1968). Cholinesterases in the area subpostrema. *J. comp. Neurol.*, 133, 289-308.

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

Handforth A., DeGiorgio CM., Schachter SC., Uthman BM., Naritoku DK., Tecoma, ES, Halpern BP., Nelson LM. (1965). Bulbar gustatory responses to anterior and to posterior tongue stimulation in the rat. *Am. J. Physiol.* 209, 105-110.

Harper RM., Sieck GC. (1980). Discharge correlations between neurons in the nucleus parabrachialis medialis during sleep-waking states. *Brain Res.*, 199: 343-358.

Hassert DL, Miyashita T, Williams CL. (2004). The effects of peripheral vagal nerve stimulation at a memory-modulating intensity on norepinephrine output in the basolateral amygdala. *Behav Neurosci.*, 118:(1), 79-88.

Hassenberg L. (1965). Ruhe and schlaf bei säugetieren. Wittenberg-Lutherstand: A Ziemsen. pp. 160.

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

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

Hennemann HE., Rubia FJ. (1978). Vagal representation in the cerebellum of the cat. *Pflügers Arch.*, 375: 119-123.

Henry TR., Bakay RA., Votaw J.R., Pennell PB., Epstein C.M., Faber TL., Grafton T., Hoffman JM. (1998). Brain blood flow alterations induced by therapeutic vagus nerve stimulation in partial epilepsy: I. Acute effects at high and low levels of stimulation. *Epilepsia*, 39 (9): 983-990.

Hernández Peón R. (1965). A cholinergic hypnogenic limbic forebrain hindbrain circuit. En: Hess WR. (1944). *Das Zwischenhirn: syndrome, lokalizationen, funktionen.* Basilea: Schabe.

Hökfelt T., Fuxe K., Goldstein M., Johansson, O. (1974). Immunohistochemical evidence for the existence of adrenaline neurons in the rat brain. *Brain Res.*, 66, 235-251.

Hobson JA., Datta S., Calvo JM., Quattrochi J. (1993). Acetylcholine as a Brain State Modulator Triggering and Long Term Regulation of REM Sleep. *Cholinergic. Function. and Dysfunction.*, 98: 110-117.

Hobson JA., McCarley RW. (1977). The brain as a dream state generator: the activation-synthesis hypothesis of the dream process. *Am. J. Psychiatry.*, 134: 1335-1384.

Hobson JA., McCarley RW., Pivik RT., Freeman R. (1974). Selective firing by cat pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. *J. Neurophysiol.*, 37: 497-511.

Hobson J., McCarley R., Wyzinsky P. (1975). Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science*; 189: 55-8.

Jeannerot M. (1965). *Organization de l'activite electrique phasique de sommeil paradoxal*. Lyon, France: These de Medicine.

Hirsch JC., Fourment A., Marc ME. (1983) Sleep related variations of membrane potential in the lateral geniculate body relay neurons of the cat. *Brain Res.* 1983; 259: 308 312.

Jahnsen H., Llinas R. (1984). Electrophysiological properties of guinea pig thalamic neurones: an in vitro study. *J. Physiol. (London)*, 349: 205 226.

Jeannerot M., Mouret J. (1963). Etude comparative des mouvements oculaires observés chez le chat au cours de la veille et du sommeil. *J. Physiol. (Paris)*, 55: 268.

Jones BE., Beaudet A. (1987). Distribution of acetylcholine and catecholamine neurons in the c brainstem: a choline acetyltransferase and tyrosine hydroxylase immunohistochemical stud *J. Comp. Neurol.*, 261: 15 35.

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

Jouvet M. (1967b). Mechanisms of the states of sleep: A neuropharmacological approach. *Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis.*, 45:86-126.

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

Jouvet M. (1972). The role of monoamines and acetylcholine containing neurons in the regulation o the sleep waking cycle. En: M. Jouvet y G. Moruzzi (Eds.). *Neurophysiology and Neurochemistry of Sleep and Wakefulness*. Reviews of Physiology, New York, Heidelberg, pp. 166, 307.

Jouvet M. (1984a). Neuromediateurs et facteurs hypnogenes. *Rev. Neurol.*, 140: 389 400.

Jouvet M. (1984b). Mechanismes des etats de sommeil. En: Benoit (Ed.). *Psysiologie du Sommeil*, New York, México, Masson. 1-18.

Jouvet M. (1988). The regulation of paradoxical sleep by the hypothalamo hypophysis. *Arch. Ital. Biol.*, 126: 259 274.

Jouvet M., Bobillier P., Pujol J. F., Renault, J. (1966). Suppression du sommeil et diminution de la serotonine cerebrale par lesion du systeme du raphe chez le chat. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 160: 2343-2350.

Jouvet M., Delorme J.F. (1965). Locus coeruleus et sommeil paradoxal. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 159: 895-899.

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

Kalia M., Mesulam MM. (1980). Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat: The cervical vagus and nodose ganglion. *J Comp Neurol.* 193, 435-465.

Kessler JP., Beaudet A. (1989). Association neurotensin binding sites with sensory and viseromotor components of the vagus nerve. *J Neurosci.*, 9: 466-472.

Knox GC. y King GW. (1976). Changes in the Breuer-Hering reflexes following Rostral pontine lesion. *Respir. Physiol.*, 28: 189-206.

Ko D., Chisti H., Scott G., Michael L., Apuzzo M., William T., Couldwell D., Thomas C, Koella WP., Feldstein A., Czicman JS. (1968). The effect of parachlorophenilalanine of the sleep on cats. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 25: 481-490.

Khubchandani M., Jagannathan NR., Mallick HN., Mohan Kumar V. (2005). Functional MRI shows activation of the medial preoptic area during sleep. *Neuroimage*, 26: 29–35.

Key, BJ., Mehta VH. (1977). Changes in electrocortical activity induced by the perfusion of 5-hydroxytryptamine into the nucleus of the solitary tract. *Neuropharmacology*, 16, 99-106.

Kostowski W., Giacalone E., Garattini S., Valzelli L. (1968). StUdies on behavioral and biochemical changes in rats afeter lessions of the midbrain raphé. *Europ. J. Pharmacol.*, 4: 371-37.

Koyama Y., Kodama T., Takahashi K., Okay K., Kayama Y. (2002). Firing properties of neurones in the laterodorsal hypothalamic area during sleep and wakefulness. *Psychiatry Clin Neurosci*, 56: 339–340.

Krahl SE., Browning RA., Clark KB., Smith DC. (1994). Possible mechanism of the seizure attenuating effects of vagus nerve stimulation. *Soc. Neurosci. Abstr.* 20, 1453.

Krahl SE., Clark KB., Smith DC., Browning RA. (1998). Locus coeruleus lesions suppress the seizure-attenuating effects of vagus nerve stimulation. *Epilepsia*, 39: 709–714.

Krahl SE, Clark KB. (2012).Vagus nerve stimulation for epilepsy: A review of central mechanisms. *Surg Neurol Int.*, 3(Suppl 4): S255-9.

Krettek JE., Price JL. (1978). Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and the brainstem of the rat and cat, *J. comp. Neurol.*, 178: 255-80.

Krueger JM., Obal Jr. F. (2003). Sleep function. *Front in Biosciences.* (8), d511–d519.Kumar VM., Datta S., Chhina GS., Singh B. (1986). Alpha-adrenergic system in medial preoptic area involved in sleep–wakefulness in rats. *Brain Res Bull*, 16: 463–468.

Kuwabara N., Seki K., Auki K. (1986). Circadian, sleep and brain temperature rhythms in cats under sustained daily light dark cycles and constant darkness. *Physiol. Behav.*; 38: 283 289.

Kuwabara N., Seki K., Aoki K. (1986). Circadian sleep and brain temperature rhythms in cats under sustained daily light dark cycles and constant darkness. *Physiol Behav.*, 38: 283 289.

Ladenheim EE., Spath EC., Ritter RC. (1988). Reduction of CCK-8-binding in the nucleus of the solitary tract in the unilaterally nodosectomized rats. *Brain Res.*, 474: 125-129.

Laguzzi R, Reis DJ, Talman WT. (1984). Modulation of cardiovascular and electrocortical activity through serotonergic mechanisms in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res.*, 304(2):321-8.

Lam RL., Ogura, IH. (1952). An afferent representation of the larynx in the cerebellum. *Laryngoscope.*, 62: 486-495.

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

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

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

LaVail JH., LaVail, MM.(1972). Retrograde axonal transport in the central nervous.

Leslie RA. (1985). Neuroactive substances in the dorsal vagal complex of the medulla oblongata: nucleus of the tractus solitarius, area postrema and dorsal motor nucleus of the vagus. *Neurochem. Int.* 7:(2),191-211.

Lewis SJ., Verberne JM., Summers RJ. (1988). Reduce glutamate binding in rat dorsal complex after nodose ganglionectomy. *Brain Res Bull.*, 21: 913-915..

Llinas RR., Steriade M. (2006). Bursting of thalamic neurons and states of vigilance. *Journal of Neurophysiology*, (95), 3297–3308.

Loewi O., (1921). Über humorale Übertragbarkeit der hertznervenwirkung. *Aechive feur die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere*, 129: 239.

Loewy AD., Burton H. (1978). Nuclei of the solitary tract; efferent projections to the lower brain stem and spinal cord of the cat. *J. comp. Neurol.* 181, 421-450.

Loewy AD., McKellar, S. (1950). The neuroanatomical basis of central cardiovascular control. *Fed. Proc.*, 39:2495-2503.

Loomis A., Harvey EY., Hobart G. (1937). Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. *J. Exp. Psychol.*, 21: 127-144.

Lu J., Sherman D., Devor M., Saper CA. (2006). Putative flip-flop switch for control on REM sleep. *Nature*; 441: 589-94.

Lu J., Greco MA. (2006). Sleep circuitry and the hypnotic mechanism of GABAA drugs. *J Clin Sleep Med.*; 2(2):S19-26.

Lucas EA. (1979). Effects of a short light dark cycle on the sleep wake patterns of the cat. *Sleep*. 1: 299-317.

Lydic R. Orem J. (1979). Respiratory neurons of the pneumotaxic center during eye movement of alert monkeys. *J Neurophysiol.*, 35: 445-461.

Magdaleno-Madrigal VM, Valdés-Cruz A, Martínez-Vargas D, Martínez A, Almazán S, Fernández-Mas R, Fernández-Guardiola A. (2002). Effect of electrical stimulation of the nucleus of the solitary tract on the development of electrical amygdaloid kindling in the cat. *Epilepsia*, 43(9):964-969.

Magdaleno-Madrigal VM, Martínez-Vargas D, Valdés-Cruz A, Almazán-Alvarado S, Fernández-Mas R. (2010). Preemptive effect of nucleus of the solitary tract stimulation on amygdaloid kindling in freely moving cats. *Epilepsia*, 51(3):438-444.

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

Malcom LJ., Watson JA., Burke W. (1970). PGO waves as unitary events. *Brain Res.*, 24: 130-133.

Maley B., Elde R. (1982a). The ultrastructural localization of serotonin immunoreactivity within the nucleus of the solitary tract of the cat. *J. Neurosci.*, 2, 1499-1506. Maley B., Elde R. (1982b). Immunohistochemical localization of

putative neurotransmitters within the feline nucleus tractus solitarii. *Neuroscience*, 7, 2469-2490.

Mancia M., Meulders M., Santibáñez HG. (1959). Synchronisation de l'électroencéphalogramme provoquée par la stimulation visuelle répétitive chez le chat "médiopontin prétrigéminal." *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 67, 661–670.

Manta S., Dong J., Debonnel G., Blier P. (2007). Vagus nerve stimulation: effects on noradrenergic neuronal firing and serotonin transmission in the rat brain. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 17: S368–S369.

Manta S., Dong J., Debonnel G., Blier P. (2009a). Enhancement of the function of rat serotonin and norepinephrine neurons by sustained vagus nerve stimulation. *J. Psychiatry Neurosci.*, 34: 272–280.

Manta S., Dong J., Debonnel G., Blier P. (2009b). Optimization of vagus nerve stimulation parameters using the firing activity of serotonin neurons in the rat dorsal raphe. *European Neuropsychopharmacology*, 19:(4), 250-255.

Manta S., El Mansari, Blier P. (2012). Novel attempts to optimize vagus nerve stimulation parameters on serotonin neuronal firing activity in the rat brain. *Brain Stimulation, Brain Stimul.* Jul;5(3):422-429.

Maquet P., Dive D., Salmon E., Sadzot B., Franco G., Poirrier R., et al. (1990). Cerebral glucose utilization during sleep–wake cycle in man determined by positron emission tomography and [¹⁸F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose method. *Brain Res*, 513: 136–143.

Marangell LB., Martinez JM., Niazi SK. (2004). Vagus nerve stimulation as a potential option for treatment-resistant depression. *Clinical Neuroscience Research*, 4:(1–2), 89-94.

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

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

Marrosu F, Serra A, Maleci A, Puligheddu M, Biggio G, Piga M. (2003). Correlation between GABA(A) receptor density and vagus nerve stimulation in individuals with drug-resistant partial epilepsy. *Epilepsy Res.*, 55(1-2):59-70.

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

McCarley RW. (2007). Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Med*; 8(4):302-30.

McCarley RW., Benoit O., Barrionuevo, G. (1983). Lateral geniculate nucleus unitary discharge in sleep and waking: state and rate specific aspects. *J. Neurophysiol.*, 50: 798 818. McCarley RW., Hobson, JA. (1971). *Science*, 174: 1250-1252.

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

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

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

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

Mendelson WB., Martin JV. (1992). Characterization of the hypnotic effects of triazolam microinjections into the medial preoptic area. *Life Sci* 1992;50:1117–1128.

Mendelson WB., Bergmann BM., Tung A. (2003). Baseline and post-deprivation recovery sleep in SCN-lesioned rats. *Brain Res*, 980: 185–190.

Mesulam MM., Mufson EJ., Wainer BH., Levey AI. (1983). Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1 Ch6). *Neuroscience*, 10: 1185-201.

Meurs A., Clinckers R., Raedt R., El Tahry R., De Herdt V., Vonck K., Smolders I., Michotte Y., Boon, P. (2008). Vagus nerve stimulation suppresses pilocarpine-induced limbic seizures and increases hippocampal extracellular noradrenalin concentration. *Epilepsia*, 49: 350.

Monckton JE, McCormick DA. (2002). Neuromodulatory role of serotonin in the ferret thalamus. *J Neurophysiol.*, 87(4):2124-36.

Morris III, G. L. and Mueller, W. M. (1999) The vagus nerve stimulation study group EO1-EO5. Long-term treatment with vagus nerve stimulation in patients with refractory epilepsy. *Neurology*, 53:1731-1735.

Miaura M., Reis DJ. (1972). The role of the solitary and paramedian nuclei in mediating cardiovascular reflex responses from carotid baro- and chemoreceptor. *J Physiol.*, 223: 525-548.

Milner TA., Okada J., Pickel VM. (1995). Monosynaptic input from Leu-Enkephalin-Immunoreactive terminal to vagal motor neurons in the nucleus ambiguus: Comparison with the dorsal motor nucleus of the vagus. *J. Comp. Neurol.*, 353: 391-406.

Mikiten, T., Niebyl, P., Hendley, C. (1961). EEG desynchronization during behavioral sleep associated with spike discharges from the thalamus of the cat. *Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol.*, 20: 327.

Mitani A., Ito K., Hallanger AE., Wainer BH., Katoaka K., McCarley, RW. (1988). Cholinergic projections from the laterodorsal and pedunculo-pontine tegmental nuclei to pontine gigantocellular tegmental field. *Brain Res.*, 45: 397-410.

Mitler MM, Lund R., Sokolove PG, Pittendrigh CS, Dement WC. (1977). Sleep and activity rhythms in mice: a description of circadian patterns and unexpected disruptions in sleep. *Brain Res.*, 131: 129-145.

Morest DK. (1967). Experimental study of the projections of the nucleus of the tractus solitarius and the area postrema in the cat. *J. comp. Neurol.* 130, 277-299.

Morgane PJ., Stern WC. (1974). Chemical anatomy of brain: circuits in relation to sleep and wakefulness. In: Weitzman ED, editor. *Advances in sleep research*. Flushing, New York: Spectrum Publications. 1–131.

Morrison AR. (1979). Brain-stem regulation of behavior during sleep and wakefulness. *Prog. Neurobiol. Psychol.*, 8: 91-131. Morrison AR., Bowker, RM. (1975). The biological significance of PGO spikes in the sleeping cat. *Acta. Neurobiol. Exp.*, 35: 821-840. Moruzzi G. (1972). The sleep–waking cycle. *Ergeb Physiol*, 64:1–165.

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

Murphy JV., Hornig GW., Schallert GS., Tilton CL., Setty AB. (1998). Adverse events in children receiving intermittent left vagal nerve stimulation. *Pediatr. Neurol.*, 19(1):42-44.

Moruzzi G., Magoun HW. (1949). Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 1:455-73.

Moruzzi G. (1964). Reticular influences on the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 16:2-17.

Naritoku, DK., Mikels JA. (1997). Vagus nerve stimulation (VNS) is antiepileptogenic in the electrical kindling model. *Epilepsia*, 38: 220.

Neuhaus HU., Borbély AA. (1978). Sleep telemetry in the rat. II. Automatic identification and recording of vigilance states. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 44: 115-119.

Nita DA, Steriade, M., Amzica, F. (2003) Hyperpolarisation rectification in cat lateral geniculate neurons modulated by intact corticothalamic projections. *J. Physiol.*, 552: 325-332.

Norgren R. (1978). Projections from the nucleus of the solitary tract in the rat. *Neuroscience* 3, 207-218.

Norgren R., Leonard CM. (1973). Ascending central gustatory pathways. *J. comp. Neurol.*, 150:217-238.

Nosjean, A., Arluison, M. and Laguzzi, R. F. (1987). Increase in paradoxical sleep after destruction of serotonergic innervations in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuroscience*, 23: 469-481.

Núñez A. (1996). Unit activity of rat basal forebrain neurons: relationship to cortical activity. *Neuroscience*, 72: 757-766.

O'Brien JH., Pimpaneau A., Albe-Fessard D. (1971). Evoked cortical response to vagal, laryngeal, and facial afferents in monkeys under chloralose anesthesia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 130: 277-300.

Obal Jr., F., Krueger JM. (2004). GHRH and sleep. *Sleep Medicine Reviews*, (8), 367-377.

Osborne NN. (1982). Assay, distribution and functions of serotonin in nervous tissues. In: *Biology of Serotonergic Transmission.*, (Osborne N. N., ed.), Wiley, Chichester.

Palkovits M., Jacobowitz DM. (1974). Topographic atlas of catecholamine and acetylcholinesterase containing neurons in the rat brain. II. Hindbrain (mesencephalon, rhombencephalon). *J. comp. Neurol.*, 157,29-41.

Pantial AS. (1973). Vagal sensory receptors and their reflex effects. *Physiol Rev.*, 53: 159-227.

Parmentier R., Ohtsu H., Djebbara-Hannas Z., Valatx JL., Watanabe T., Lin JS. (2002). Anatomical, physiological, and pharmacological characteristics of histidine decarboxylase knock-out mice: evidence for the role of brain histamine in behavioral and sleep-wake control. *J Neurosci*, 22: 7695-7711.

Penry JK., Dean JC. (1990). Prevention of intractable partial seizures by intermittent vagal stimulation in humans: Preliminary results. *Epilepsia (Suppl. 2)*, 31: 40-43.

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

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

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

Puizillout JJ. (1986). Noyau du faisceau solitaire, serotonine et regulation de la vigilance. *Rev Electrophysiology neurophysiol Clin.*, 16: 96-106.

Puizillout JJ, Foutz AS. (1977). Characteristics Ofthe experimental replex sleep induced by vago-aortic nerve stimulation. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 42: 552-563.

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

Pompeiano O, Swett JE. (1962). EEG behavioural manifestation of sleep induced by cutaneous nerve stimulation in normal cats. *Arch. Ital. Biol.*, 100, 311–342.

Quattrochi J., Mamelak AN., Macklis JD., Madison R. Hobson JA. (1989). Mappi neuronal inputs to REM sleep induction sites with carbachol fluorescent microspher Science, 245: 984 986.

Raedt R, Clinckers R, Mollet L, Vonck K, El Tahry R, Wyckhuys T, De Herdt V, Carrette E, Wadman W, Michotte Y, Smolders I, Boon P, Meurs A. (2011). Increased hippocampal noradrenaline is a biomarker for efficacy of vagus nerve stimulation in a limbic seizure model. *J Neurochem.*, 117:(3), 61-69.

Ramón y Cajal S. (1911). *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés*. Norbert Maloine, Paris.

Reinoso Suárez, F. (1997). *Neurobiología del despertar y la vigilia*. An. R. Acad. Nac. Med. (Madrid), 114: 249 264.

Ricardo JA., Koh ET. (1978). Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Res.* 153, 1-26.

Roosevelt RW., Smith DC., Clough RW., Jensen RA., Browning RA. (2006). Increased extracellular concentrations of norepinephrine in cortex and hippocampus following vagus nerve stimulation in the rat. *Brain Res.* 1119: 124–132.

Rosenwasser AM. (2009). Functional neuroanatomy of sleep and circadian rhythms. *Brain Res Rev.*, 61(2): 281-306.

Rechtschaffen A., Kales A. (1968). *A manual of standardized terminology, technique and scoring system for sleep stages of human subjects*. (1 st ed.). Washington, D. C., public healt service, U. S. Goverment Printing Office.

Reinoso-Barbero F, de Andrés I. (1995). Effects of opioid microinjections in the nucleus of the solitary tract on the sleep-wakefulness cycle states in cats. *Anesthesiology*. 1995 Jan;82(1):144-52.

Ricardo JA., Koh ET. (1978). Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Res.*, 153: 1-26.

Riou F., Cespuglio R., Jouvet M. (1982a). Endogenous peptides and sleep in the rat I. *Neuropeptides*, 2: 248-254.

Riou F., Cespuglio R., Jouvet M. (1982b). Endogenous peptides and sleep in the rat II: Peptides without significant effect on the sleep-waking cycle. *Neuropeptides*, 2: 255-264.

Riou F., Cespuglio R., Jouvét M. (1982c). Endogenous peptides and sleep in the rat III: the hypnogenic properties of vasoactive intestinal polypeptide. *Neuropeptides*, 11: 265-277.

Rizzo, P., Beelke, M., De Carli, F., Canovaro, P., Nobili, L., Robert, A., Fornaro, P., Tanganelli, P., Regesta, G. and Ferrillo, F. (2004). Modifications of sleep EEG induced by chronic vagus nerve stimulation in patients affected by refractory epilepsy. *Clin. Neurophysiol.*, 115: 658-664.

Rizzo, P., Beelke, M., De Carli, F., Canovaro, P., Nobili, L., Robert, A., Tanganelli, P., Regesta, G. and Ferrillo, F. (2003). Chronic vagus nerve stimulation improves alertness and reduces rapid eye movement sleep in patients affected by refractory epilepsy. *Sleep*, 26:607-611.

Rhoton AL., O'Learly JL., Ferguson JP. (1966). The trigeminal facial, vagal, and glossopharyngeal nerves in the monkey. *Arch. Neurol.*, 14: 530-540.

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

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

Saleh TM., Cacehtto DE. (1993). Peptides in the parabrachial nucleus modulate visceral output to the thalamus. *Am. J. Physiol.*, 264: R668-R675.

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

Sakai K. (1985). Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. En: McGinty DJ., Drucker Colín, R., Morrison, A., Parmeggiani, PL.(Eds.). *Brain mechanisms of paradoxical sleep*. New York, Raven Press, pp. 166, 307.

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

Sakai K, Crochet S. (2000). Serotonergic dorsal raphe neurons cease firing by disfacilitation during paradoxical sleep. *Neuroreport.*, 28;11(14):3237-3241.

Sakai K, Crochet S. (2001a). Differentiation of presumed serotonergic dorsal raphe neurons in relation to behavior and wake-sleep states. *Neuroscience*. 104(4):1141-1155.

Sakai K, Crochet S. (2001b). Increase in antidromic excitability in presumed serotonergic dorsal raphe neurons during paradoxical sleep in the cat. *Brain Res.* 20;898(2):332-41.

Sakai K., Crochet S. (2003). A neural mechanism of sleep and wakefulness. *Sleep Biol Rhythms*, 1: 29-42.

Sakai K., Vanni-Mercier G., Jouvét M. (1983). Evidence for the presence of PS-OFF neurons in the ventromedial medulla oblongata of freely moving cats. *Exp. Brain Res.*, 49: 311-314.

Sallanon M., Janin M., Buda C., Jouvét M. (1983). Serotonergic mechanisms and sleep rebound. *Brain Res*, 268: 95-104.

Sánchez Vives MV, McCormick DA. (2000). Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex. *Nat. Neurosci.* 3: 1027-1034.

Saper CB., Loewy AD., (1980). Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res.*, 197: 291-317.

Saper CB. (1982). Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. *J Comp Neurol.*, 210: 163-173.

Saper CB., Reis DJ., Joh T. (1983). Medullary catecholamine inputs to the anteroventral third ventricular cardiovascular regulatory region in the rat. *Neurosci. Lett.* 42, 285-291.

Saper C., Fuller P., Pedersen N., Lu J., Scammell. T. (2010). Sleep state switching. *Neuron*; 68: 1023-42.

Saper CB, Loewy AD. (1982). Projections of the pedunculo-pontine tegmental nucleus in the rat: evidence for additional extrapyramidal circuitry. *Brain Res.*, 1982 252(2):367-72.

Sastre JP., Sakai K., Jouvet M. (1981). Are the gigantocellular tegmental field neurons responsible for paradoxical sleep?. *Brain. Res.*, 229: 147-161.

Sawchenko PE. (1983). Central connections of the sensory and motor nuclei of the vagus nerve. *J. Autonom. Nerv. Syst.* 9, 13-26.

Sawchenko PE., Swanson LW. (1982). The organization of noradrenergic pathways from the brainstem to the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat, *Brain Res. Rev.*, (4):275-325.

Schachter SC., Saper CB. (1998). Vagus nerve stimulation. *Epilepsia*, 39(7): 677-686,

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

Semba K., Fibiger HC. (1992). Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculo-pontine tegmental nuclei in the rat: a retro and anterograde transport and immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.*, 323: 387-410.

Semba K. (2000). Multiple output pathways of the basal forebrain: organization, chemical heterogeneity, and roles in vigilance. *Behav. Brain Res.*, 115: 117-141.

Serkov FN., Bratus, NV. (1970). Electrical responses of the hippocampus to stimulation of the vagus nerve. In: Rusinov V.S., Ed. *Electrophysiology of the central nervous system*. New York, Plenum Press, pp. 391-402.

Setty AB., Vaughn BV., Quint SR., Robertson KR., Messenheimer JA. (1998). Heart period variability during vagal nerve stimulation. *Seizure*, 7(3): 213-217.

Sheldon PW, Aghajanian GK. (1990). Serotonin (5-HT) induces IPSPs in pyramidal layer cells of rat piriform cortex: evidence for the involvement of a 5-HT₂-activated interneuron. *Brain Res.*, 1;506(1):62-69.

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

Shiromani PJ., Armstrong DM., Berkowitz A., Jeste DV., Gillin JC. (1988). Distribution of choline acetyltransferase immunoreactive somata in the feline brainstem: implications for REM sleep generation. *Sleep*, 11: 1-16.

Shiromani PJ, Fishbein W. (1986). Continuous pontine cholinergic microinfusion via mini-pump induces sustained alterations in rapid eye movement (REM) sleep. *Pharmacol Biochem Behav.* 1986 Dec;25(6):1253-1261.

Sieck GC., Harper RM. (1980a). Pneumotaxic area neural discharge during sleep-waking states in the cat. *Expl. Neurol.*, 67: 79-102.

Sieck GC, Harper RM. (1980b). Discharge of neurons in the parabrachial pons related to the cardiac cycle: changes during different sleep-waking states. *Brain Res.*, 199: 385-399.

Siegel JM., McGinty DJ., Breedlove SM. (1977). Sleep and waking activity of pontine gigantocellular field neurons. *Exp. Neurol.*, 56: 553-573.

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

Siegel JM., Tomaszewski KS., Wheeler RL. (1983). Behavioral organization of reticular formation in unrestrained cat. II. Cells related to facial movements. *J. Neurophysiol.*, 50: 717-723.

Silber MH., Ancoli-Israel S., Bonnet MH., Chokroverty S., Grigg-Damberger MM., Hirshkowitz M., Kapen S., Keenan SA., Kryger MH., Penzel T., Pressman MR., Iber C. (2007). The visual scoring of sleep in adults. *J Clin Sleep Med.* Mar 15;3(2):121-31.

Sillito AM, Jones HE, Gerstein GL, West, DC. (1994). Feature linked synchronization of thalamic relay cell firing induced by feedback from the visual cortex. *Nature*, 369: 479-482.

Siemers ER., Rea MA., Felten DL., Aprison MH. (1982). Distribution and uptake of glycine, glutamate and gamma-aminobutyric acid in the vagal nuclei and eight other regions of the rat medulla oblongata. *Neurochem. Res.*, 7, 455-468.

Simon NR, Manshanden I., Lopes da Silva FH. (2000). A MEG study of sleep. *Brain Res.*, 860: 64-76.

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

St John WM., Glasser RL., Kin RA. (1971). Apneustic breathing in cats with chronic pneumotaxic center lesions. *Respir. Physiol.*, 12: 239-250.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Stoica I., Tudor I. (1967). Effects of vagus afferents on strychninic focus of coronal gyrus. *Rev Roum Neurol*, 4: 287-295.

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

Stroh A., Adelsberger H., Groh A., Rühlmann C., Fischer S., Schierloh A., Deisseroth K., Konnerth A. (2013). Making waves: initiation and propagation of corticothalamic Ca²⁺ waves in vivo. *Neuron.*, 20;77(6), 1136-1150.

Swanson LW., Hartman BK. (1975). The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine-beta-hydroxylase as a marker., *J. comp. Neurol.*, 163: 467-506.

Swett CP., Hobson JA. (1968). The effects of posterior hypothalamic lesions on behavioral and electrographic manifestations of sleep and waking in cats. *Arch Ital Biol.*, 6:283-93.

Szymusiak R., McGinty D. (1989). Sleep-waking discharge of basal forebrain projection neurons in cats. *Brain Res Bull*, 22:423-30.

Taylor AC., Weiss P. (1965). Demonstration of axonal flow by the movement of tritium-labelled protein in mature optic nerve fibres. *Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A.* 54, 521-1527.

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

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

Thomas MR, Calaresu FR. (1974). Localization and function of medullary sites mediating vagal bradycardia in the cat., *Am J Physiol.*, 226(6):1344-9.

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

Tobler I., Jaggi K. (1987). Sleep and EEG spectra in the syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) under baseline conditions and following sleep deprivation. *J. Comp. Physiol.*, 161: 449-459.

Tobler I., Scherschlicht R. (1990). Sleep and EEG slow wave activity in the domestic cat: effect of sleep deprivation. *Behav Brain Res.*, 37: 109-118.

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

Ticho SR., Radulovacki M. (1991). Role of adenosine in sleep and temperature regulation in the preoptic area of rat.. *Pharmacol Biochem Behav*, 40: 33-40.

Torvik A. (1956). Afferent connections to the sensory trigeminal nuclei, the nucleus of the solitary tract and adjacent structures. An experimental study in the rat. *J. comp. Neurol.* 106, 51-141.

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

Ursin R., Sterman M.B. (1981). A manual for standardized scoring of sleep and waking states in the adult cat. Los Angeles: University of California Press.

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

Valdés-Cruz A., Magdaleno-Madrigal VM., Martínez-Vargas D., Fernández-Mas R., Almazán-Alvarado, S. (2008). Long-term changes in sleep and electroencephalographic activity by chronic vagus nerve stimulation in cats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 32, 828–834.

Van der Kooy D., McGinty JF., Koda LY., Gerfan CR., Bloom FE. (1982). Visceral cortex: a direct connection from prefrontal cortex to the solitary nucleus. *Neurosci. Lett.* 33, 123-127.

Vanderwolf CH. (1969). Hippocampal electric activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 26: 407-418.

Vertes RP. (2006). Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience.* 142: 1–20.

Van Laere, K., Vonck, K., Boon, P., Versijpt, J., Dierckx, R., (2002). Perfusion SPECT changes after acute and chronic vagus nerve stimulation in relation to prestimulus condition and long-term clinical efficacy. *J. Nucl. Med.* 43, 733–744.

Vanni-Mercier G., Sakai K., Jouvet M. (1991). Carbachol microinjections in the mediodorsal pontine tegmentum are unable to induce paradoxical sleep after caudal pontine and prebulbar transections in the cat. *Neurosci. Lett.*, 130: 41-45.

Vanni-Mercier G., Sakai K., Lin JS., Jouvet M. (1989). Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch. Ital. Biol.*, 127: 133-164.

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

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

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

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

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

Von Economo C., (1930). Sleep as a problem of localization. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 7: 249-259.

Vonck, K., Boon, P., Van Laere, K., D'Have, M., Vandekerckhove, T., O'Connor, S., Brans, B., Dierckx, R., De Reuck, J., (2000). Acute single photon emission computed tomographic study of vagus nerve stimulation in refractory epilepsy. *Epilepsia* 41, 601–609

Vonck K., De Herat V., Bosman T., Dedeurwaerdere S., Van Laere K., Boon P. (2008). Thalamic and limbic involvement in the mechanism of action of vagus nerve stimulation, a SPECT study. *Seizure.*,17(8):699-706.

Vonck, K., Van Laere, K., Dedeurwaerdere, S., Caemaert, J., De Reuck, J., Boon, P. (2001). The mechanism of action of vagus nerve stimulation for refractory epilepsy: the current status. *J. Clin. Neurophysiol.* 18, 394–401.

Walker BR., Easton A., Gale K. (1999). Regulation of limbic motor seizures by GABA and glutamate transmission in nucleus tractus solitarius. *Epilepsia*, 40: 1051–1057.

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

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

Woodbury, D.M., Woodbury, J.W., (1990). Effects of vagal stimulation on experimentally induced seizures in rats. *Epilepsia* 31 (Suppl. 2), 7 – 19.

Yamamoto K., Mamelak AN., Quattrochi J. Hobson JA. (1990a). A cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: locus of sensitive region. *Neuroscience*, 39: 279-293.

Yamamoto K., Mamelak A.N., Quattrochi J. Hobson J.A. (1990b). A cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: spontaneous and drug-induced neuronal activity. *Neuroscience*, 39: 295-304.

Zabara J. Time course of seizure control to brief repetitive stimuli. *Epilepsia*, 26:518.

Zanchetti A., Wang SC., Moruzzi G. (1952). The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 4: 357-361.

Zhang DX, Bertram EH. (2002). Midline thalamic region: widespread excitatory input to the entorhinal cortex and amygdala. *Journal of Neuroscience*, 22: 3277—3284.