



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

ISSN: 1870 3267

Investigación, Docencia y Servicio

- Instituto de Ciencias de la Salud
- Facultad de Medicina Xalapa
- Hospital Escuela

Suplemento 2 Volumen 8, Número 1
Enero - Junio 2008



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Suplemento 2 Volumen 8, Número 1 Enero - Junio 2008

Contenido

> EDITORIAL	
“La Función Biológica del Sueño: Nuevas Aproximaciones” Dr. Fabio García	5
> TEMAS DEL CURSO	
Introducción al estudio del ciclo vigilia-sueño Dr. Carlos A. Blanco Centurión	6
Influencia de la respuesta de estrés sobre el patrón de sueño Javier Velázquez Moctezuma, José Angel Rojas Zamorano, Enrique Esqueda León	19
Usando neurotoxinas para entender el circuito cerebral que regula el ciclo vigilia-sueño Carlos A. Blanco Centurión, Priyattam J. Shiromani	24
Filogenia del sueño: de invertebrados a vertebrados Fructoso Ayala Guerrero	37
Humoral Regulation of Sleep; Implications for Sleep as an Emergent Use-Dependent Local Process James M. Krueger	46
¿Qué le pasa al cerebro cuando no duerme? María Corsi Cabrera	53
Malnutrición y el ciclo sueño-vigilia en la rata León Cintra McGlone, Pilar Durán Hernández	57
La vigilia como regulador del sueño René Drucker Colín, Fabio García-García	63
Neurophysiological meaning of the similarities between sleep spindles, k-complexes, and anesthesia bursts Manuel J. Rojas, Jinna A. Navas, David M. Rector	68
Restauración neuronal o plasticidad sináptica a lo largo del ciclo sueño-vigilia Corinne J. Montes Rodríguez, Eunice A. Domínguez Martín, Oscar Próspero García	71
Los sueños: Cuando los dioses se comunican con los hombres. Psicobiología de las ensoñaciones Eric Murillo Rodríguez	78
> COMUNICACION CIENTIFICA	82



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Director

Marco Antonio González Rivera -
Inst. de Ciencias de la Salud / Fac. de Medicina-Xalapa

Editor

Patricia Pavón León - Instituto de Ciencias de la Salud

Editores Asociados

Rafael Velasco Fernández
Carlos M. Contreras Pérez
Lilia Irene Durán González

Consejo Editorial

Patricia Pavón León - Instituto de Ciencias de la Salud
Irma del Carmen Osorno Estrada - Fac. de Medicina-Xalapa
Carlos Blázquez Domínguez - Hospital Escuela

Director Fundador

José Arenas Benhumea

Indizada:

Imbiomed
Latindex

Comité Editorial

Instituto de Ciencias de la Salud

Leodegario Oliva Zárate
María Gabriela Nachón García
María del Carmen Gogeochea Trejo
María Sobeida Leticia Blázquez Morales
Pedro Guillermo Coronel Brizio
Victor Landa Ortiz

Facultad de Medicina-Xalapa

Ángel Alberto Casillas Cruz
Armando Méndez Pérez
Berta E. Cocotle Ronzón
Pedro Chavarria Xicotencatl
Rafael Cano Ortega
Saturnino Navarro Ramírez

Hospital Escuela

Carlos Alejandro Galván Peña
J. J. Daniel López Muñoz
Juan José Martínez Meza
Jorge Galvan Ortiz
Matilde Arellano Gajón

Corrección de estilo

Carlomagno Sol Tlachi - Instituto de Investigación Lingüístico-Literarias
Faustino Gerardo Cerdán Vargas - Becario Inst. de Inv. Lingüístico-Literarias

Diseño interior y formación

Víctor Olivares García - Instituto de Ciencias de la Salud

Diseño Portada

Xavier Cozar Angulo

Universidad Veracruzana

Rector

Raúl Arias Lovillo

Secretario Académico

Ricardo Corzo Ramírez

Secretario de Administración y Finanzas

Victor Aguilar Pizarro

Director General de Investigaciones

Adalberto Tejeda Martínez

Revista Médica de la Universidad Veracruzana® es una publicación semestral del Instituto de Ciencias de la Salud, de la Facultad de Medicina -Xalapa y del Hospital Escuela de la Universidad Veracruzana. Todo material enviado para su publicación será propiedad de la revista. Reserva de Derecho al Uso Exclusivo del Título: 04-2004-063012254500-102. La originalidad de los artículos así como las opiniones expresadas serán responsabilidad de los autores. Toda la correspondencia debe dirigirse al editor de la revista a la siguiente dirección: Instituto de Ciencias de la Salud, Av. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n Col. Industrial Ánimas, 91190, Xalapa, Veracruz, México, Tel. (228)8418925, fax 8418926, correos electrónicos: revista_medica@uv.mx, rev_meduv@hotmail.com. Página web: www.uv.mx/rm. Impresa en **DIGITEX**, Leona Vicario # 8, Centro, Tel. 8185472, Xalapa, Veracruz.



EDITORIAL

“La Función Biológica del Sueño: Nuevas Aproximaciones”

Dr. Fabio García García

“Las ideas no duran mucho, hay que hacer algo con ellas” decía Don Santiago Ramón y Cajal y es así como la idea de llevar a cabo un evento académico, que reuniera lo mejor de la investigación en biología del sueño, se gestó desde hace mucho. Sin embargo, el camino para realizarlo no fue fácil y las penurias a las que estamos acostumbrados malamente los científicos emergieron. Afortunadamente, la tenacidad de los organizadores sumado al trabajo entusiasta de estudiantes y personal administrativo hicieron que el evento al cual asisten, así como la memoria impresa que tienen en sus manos sea una realidad, la idea no se perdió se hizo algo con ella.

Este número especial de la revista alberga entre sus páginas las propuestas y argumentos académicos de un connotado grupo de investigadores provenientes de diferentes latitudes, quienes exponen con objetividad diferentes temas relacionados con la biología del sueño. Primeramente, se comienza con una descripción de los aspectos neuroanatómicos y neuroquímicos que regulan

al sueño, seguido de los aspectos filogenéticos cursando desde invertebrados hasta llegar a los mamíferos y se finaliza con la exposición de las principales hipótesis que existen actualmente acerca de la función que este fenómeno tan fascinante tiene para el cerebro y para el cuerpo en su totalidad.

Además, este volumen pretende convertirse en lectura obligada de jóvenes estudiantes que desean incursionar en el estudio de la biología del sueño, ya que proporciona una herramienta que contempla una visión integral de lo que hoy día es la ciencia del sueño.

Por otra parte, este número especial tiene no solo valor académico por la información que contiene, sino además tiene valor histórico por la calidad académica irrefutable de quienes en ella escriben, la cual se respalda por años de experiencia convertidos en trabajo y quienes muchos llaman trayectoria. Gracias a todos ellos por su contribución.

Dr. Fabio García García



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Introducción al estudio del ciclo vigilia-sueño

Introduction to the study of the sleep-wake cycle

Dr. Carlos A. Blanco Centurión

Department of Neurology. Harvard Medical School. Harvard University.

Boston, Massachusetts, EUA.

Blanco-Centurión CA. Introducción al estudio del ciclo vigilia-sueño

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 6-18.

RESUMEN

Los estudios científicos del fenómeno de dormir/despertar tomaron auge sólo hasta el siglo pasado y se han continuado a la fecha con mucho vigor. Tanto la investigación básica como clínica participan conjuntamente en este esfuerzo. Literalmente, cada año cientos de investigadores en muchos países publican reportes en esta materia. Durante las últimas décadas ha sido tal la evolución de las técnicas y conceptos que la cantidad de información generada es abrumadora. De este modo se requiere de una introducción que permita familiarizarse con el estado actual de la investigación así como atisbar los desarrollos futuros. Por razones de espacio y dada la multiplicidad de conceptos y metodologías se abordarán cada uno muy sucintamente y con el menor número de ejemplos posible. No todas las técnicas o conceptos son tratados aquí pero se intentó de incluir los más importantes. La bibliografía se dejó al mínimo, concretándose a citar los ejemplos referidos en el texto. En cuanto a conceptos y fenómenos, se introducirán definiciones elementales de sueño y vigilia, los diferentes tipos de sueño/vigilia entre otras definiciones importantes, y se tratará además de la naturaleza cíclica de estos fenómenos, su respuesta homeostática, así como algunos cambios ontogénicos y filogenéticos. En relación con metodologías, técnicas e instrumentación, se hablará ampliamente

desde aquellas que estudian niveles de integración superiores como el cerebro íntegro (polisomnografía, espectro de potencias aplicado al EEG, imagenología, etc.), hasta otras que se enfocan en niveles celulares y subcelulares (registro unitario, trazadores neuronales, inmunohistoquímica, lesión, técnicas de biología molecular, etc.).

Palabras clave: sueño, vigilia, ritmos, conceptos, metodologías, introducción.

ABSTRACT

The impetus of the study of sleep and wakefulness began the past century and it continues vigorously to date. Both basic and clinical research contribute to this endeavor. Hundred of researches from several countries publish reports on this topic every year. Because of this trend, the last two decades have witnessed a hasty evolution about concepts and techniques making the understanding of the scientific data an overwhelming task, especially for the novice. Therefore, an introduction is needed that helps the reader to acquaint with the current and upcoming developments in the science of sleep and wakefulness. For the sake of shortness, every concept and methodology is mentioned briefly calling on the least number of examples possible (cited in

the references). Although this is not a comprehensive review, it touches the most relevant material. The main concepts presented herein are the definitions of sleep and wakefulness, the different types of sleep, the rhythm(s) of sleep and wakefulness, and some of its phylogenetic and ontogenetic developments. Regarding methodologies, techniques and instrumentation the scope attained here is broad. It goes from explaining those methodologies focusing on the highest hierarchy integration level such as the polysomnography to those concentrating on the molecular and cellular level (unitary recording, neuronal tracing, molecular biology, etc.)

Aunque frecuentemente la vigilia y el sueño son vistos como fenómenos exclusivamente presentes en la corteza cerebral, deberíamos entender a estos como **conductas o estados de actividad** que se manifiestan en varias partes del organismo como los músculos o el sistema cardiorespiratorio. En homeotermos, a los diferentes estados de actividad cerebral se les conocen como **estados de vigilancia**. Así, al hablar de vigilia y sueño como conductas o estados de actividad, encontraremos que estos fenómenos están presentes también en diversas especies animales que no tienen corteza cerebral, como son invertebrados, peces o anfibios ¹. Aunque en estas especies de poiquilotermos no se presentan los patrones de actividad eléctrica cerebral observada en los mamíferos y aves, estas especies sí presentan conductas características del sueño como inmovilidad, alto umbral de alerta y postura característica. Al estudio del sueño y la vigilia en diferentes especies animales se le conoce como **filogenia del sueño**. Por ejemplo, en los mamíferos marinos como los cetáceos o la foca ártica, el sueño sólo ocurre en un hemisferio cerebral mientras que el otro permanece despierto ^{2,3}. No en todas las especies de animales se han estudiado el sueño y la vigilia a profundidad. Es muy importante que estos estudios continúen ya que de sus resultados se podrá entender enigmas fundamentales como por ejemplo la función del sueño, los mecanismos celulares o moleculares universales de los estados de vigilancia y cómo el ambiente ha transformado los patrones de sueño-vigilia.

Por otro lado, los conceptos de sueño-vigilia no se deben aplicar a plantas, ya que estos organismos no tienen tejido nervioso y como tal es inapropiado hablar

de “conductas” de actividad-reposo, aunque las plantas presenten diferentes estados de actividad. Asimismo, se debe poner cuidado para no confundir lo que el lenguaje popular entiende por “sueño”, ya que en este caso se refiere a las **ensoñaciones** o actividad onírica; es decir, las bizarras historias que experimentamos cuando dormimos. Sueño en el lenguaje científico (*sleep* en inglés) se refiere al estado de dormir en general, no sólo a las ensoñaciones. Igualmente, en el lenguaje popular, el término de **vigilia** se usa para denotar cuando *voluntariamente* un sujeto se abstiene de dormir por la noche, pero en el lenguaje de las neurociencias el concepto de vigilia va mas allá de estas circunstancias. La vigilia es el estado cuando se está despierto *independientemente* de la hora del día y no necesariamente involucra un acto *volitivo*. Debido a que múltiples conductas se manifiestan cuando se está despierto, se debe ver a la vigilia como una *conducta general* dentro de la cual otras conductas particulares toman cuerpo. En otras palabras, la vigilia debe ser vista como una conducta *sui géneris* ubicada en un nivel jerárquico superior respecto a otras conductas. Dada esta generalidad de la vigilia, en los artículos científicos en inglés se usen varios sinónimos para la vigilia como *wakefulness*, *alertness*, *vigilance* y algunas veces hasta *consciousness* (*conciencia*). En los textos científicos se evita usar el término de conciencia para referirse a la vigilia en animales. En los humanos se entiende que la conciencia es parte de la vigilia pero no toda la vigilia es conciencia.

Dada la estrecha relación de la vigilia con la conducta y para efectos operativos, frecuentemente se diferencia a la vigilia en dos partes; **vigilia activa** y **vigilia pasiva**. La diferencia entre ambas es que en la vigilia activa se observan conductas o movimientos elaborados (locomoción, ejecución, alimentación, etc.) mientras que en la vigilia pasiva sólo se observan movimientos voluntarios simples o autonómicos como la respiración. Actualmente se ha vuelto común la automatización de la medición de la conducta, de manera que diferentes tipos de sensores permiten cuantificar el grado de movimiento de forma continua. Por ejemplo, en los humanos, acelerómetros colocados en las muñecas registran el nivel de movimiento por días o semanas, y esta información da una pista de cuánto tiempo el sujeto durmió o estuvo despierto⁴.

A esto se le conoce como **actograma** y es muy utilizado por investigadores de los **ritmos biológicos**. Gracias a la automatización de la medición de la actividad, se estudia el sueño y la vigilia en especies como las moscas de la fruta ⁵.

Aunque el registro del movimiento o grado de actividad muscular es útil, no es suficiente para medir con precisión la vigilia y el sueño en los homeotermos. Se requiere adicionar una variable *fundamental* que es el registro de la **actividad eléctrica del cerebro**. Así, basado sólo en el nivel de actividad de los músculos esqueléticos, no se puede saber la diferencia entre vigilia pasiva y sueño *quieto*. En ambos, los músculos antigravitatorios muestran muy bajo nivel de actividad pero la actividad eléctrica del cerebro es diferente. En animales, el registro de la actividad eléctrica cerebral se consigue colocando *electrodos* directamente sobre la corteza cerebral en al menos dos diferentes posiciones como sobre la corteza frontal y la occipital. En humanos, los electrodos se colocan sobre el cuero cabelludo sobre las mismas posiciones (pero frecuentemente mas posiciones) y a estos registros se les conoce como **electroencefalograma** o EEG. El registro de la actividad eléctrica continúa de los músculos antigravitatorios, típicamente los del cuello (animal) o la mandíbula (humanos), se le conoce como **electromiograma** o EMG. Cada vez más, los laboratorios y clínicas de sueño están adaptando la tecnología digital para el registro del sueño y la vigilia. La señal analógica del EEG+EMG y otras variables se digitaliza y se visualiza en tiempo real en la pantalla de la computadora y además se almacena en el disco duro para su posterior análisis. Antes de la era digital, era necesario registrar estas señales en tiras de papel que pueden llegar a medir cientos de metros y requieren el continuo flujo de tinta a los trazadores.

El EEG y el EMG registran la actividad eléctrica sumada de cientos de neuronas o fibras musculares de manera que muestran un nivel de actividad *poblacional*. Además, es muy común que se registre la actividad eléctrica (como voltaje) de un sitio de la corteza *comparado* con otro sitio, en lo que se conoce como registro bipolar (Ej. Frontal vs. Occipital). Los registros bipolares nos indicarían por tanto la actividad global de la corteza cerebral. Los potenciales eléctricos registrados en el EEG son muy débiles

(microvoltios o μV), y por lo tanto se requiere amplificarlos miles de veces.

El EEG del cerebro **despierto** se caracteriza por ondas de *bajo voltaje y frecuencia rápida* ($4 < \chi < 150$ ciclos por segundo o cps y 5-10 μV), también conocidas como **desincronizadas**, mientras que al **dormir**, el EEG muestra ondas que gradualmente se *lentifican* (0.5-4 cps) y simultáneamente *crecen en amplitud* (hasta 300 μV), a lo que se llama también **sincronización** del EEG. Además, se observan durante el sueño unas ondas conocidas como *husos de sueño*, cuya amplitud crece y decrece dentro de una banda de frecuencia de 12-16 cps. Por otro lado, no siempre un sujeto dormido muestra un EEG sincronizado. Cíclicamente, a lo largo de la fase de sueño se presentan episodios donde el EEG se vuelve muy similar a la vigilia; es decir, la frecuencia se acelera, el voltaje disminuye y desaparecen los husos de sueño. El sujeto no despertó, ya que conductualmente sigue dormido y además presenta un elevado *umbral* para despertar, así como sus músculos antigravitatorios están completamente inhibidos. A este último fenómeno que se le conoce como **atonía muscular**. Muy peculiar de este estado es la presencia de ráfagas de *movimientos oculares rápidos* o MOR. Además, si se despierta al sujeto, muy frecuentemente reportará haber experimentado ensoñaciones. Por todas estas características, a estos episodios de sueño se les conoce como sueño con movimientos oculares rápidos o simplemente **sueño MOR**. Asimismo, debido a la presencia de contracciones súbitas, esporádicas y aisladas de algunos músculos de la cara o extremidades, se le conoce como **sueño activo**. En contraste, al sueño donde se observa un EEG sincronizado, sin atonía muscular, movimientos oculares rápidos o ensoñaciones, se le conoce como **sueño de ondas lentas, sueño no- MOR o sueño quieto**.

El registro *simultáneo* de las variables fisiológicas antes mencionadas como el EEG, el EMG, los movimientos oculares o electro-oculograma (EOG), pero además la respiración, la temperatura corporal, el nivel de saturación de oxígeno en sangre, la actividad eléctrica del corazón (EKG), las vibraciones producidas por las cuerdas vocales (para detectar ronquidos) e incluso la filmación del sujeto al dormir son conocidos como **polisomnograma** o PSG. El PSG con muchos parámetros se utiliza más en la clínica con

finés diagnósticos que en la investigación básica. Así, en la **clínica de sueño**, el PSG permite detectar paros respiratorios o apneas durante el sueño, que inducen microdespertares. A esta patología cada vez más común se le conoce como *apnea de sueño*. En el laboratorio de ciencia básica, donde frecuentemente se usan animales como el gato o la rata, se puede registrar, además del EEG+EMG+EOG, la actividad eléctrica *subcortical* en estructuras como el hipocampo dorsal, el puente o el núcleo geniculado lateral. Durante el sueño MOR el hipocampo muestra una actividad eléctrica conocida como **ritmo teta** hipersincrónico, mientras que en el puente o en el núcleo geniculado lateral (tálamo) electrodos profundos registran ráfagas de potenciales característicos conocidos como **ondas PGO**. Tanto en la clínica como en la investigación básica se divide al PSG en **épocas**, que son segmentos de igual duración a los que se les asigna un estado de vigilancia particular según criterios establecidos. i.e. sueño no-MOR, sueño MOR, vigilia. A este proceso se le conoce como *calificación* y es cada vez más común que se realice en forma *automatizada*. La duración de la época del PSG es diferente para animales y humanos. En animales, es más breve (5-30 seg), ya que el ciclo vigilia-sueño también dura menos mientras que en los humanos la duración de la época va de 30 seg. a 1 min.

El gran énfasis en el registro de la actividad poblacional de la corteza cerebral durante la vigilia y el sueño ha originado que se realice un análisis más profundo del EEG conocido como **espectro de potencias**. El espectro de potencias descompone matemáticamente (análisis de Fourier) las ondas complejas del EEG, en *bandas* de diferentes frecuencias, y determina además la *potencia* de cada banda expresada como potencia al cuadrado (μV^2). Si se piensa que el EEG representa la actividad post-sináptica de millones de neuronas donde no toda ésta ocurre a la misma frecuencia, el análisis espectral separaría las diferentes subpoblaciones e indicaría la predominancia de cada una de estas en la totalidad del EEG. Comúnmente se analiza la potencia de la banda *delta* (0.5-4 cps), *teta* (4-8 cps), *alfa* (8-12 cps), *sigma* (12-16), *beta* (14-35 cps), *gamma* (34-45) y *omega* (>45 cps). Debido a que la **potencia delta** o **actividad de ondas lentas** (AOL) se incrementa con la duración de la vigilia y disminuye gradualmente durante el sueño, se cree que ésta representa un índice de la **necesidad**

o *presión homeostática* para dormir y muy frecuentemente se reporta tanto en estudios clínicos como básicos. Además, es común que la potencia delta se calcule principalmente durante el sueño no-MOR. De hecho, la predominancia de AOL ha servido para establecer diferentes estadios dentro del sueño no-MOR. En los animales se ha dividido el sueño no-MOR en *dos fases*, donde una de ellas presenta menos de 50%/época de AOL (tipo I o sueño ligero) y otra fase donde la AOL es mayor a esta cifra (tipo II o sueño profundo). En los humanos hay cuatro fases de sueño no-MOR siendo las fases II+III equivalentes al sueño ligero en animales, mientras que la fase IV equivaldría a la fase tipo II de los animales. La AOL durante el sueño no-MOR presenta cambios **ontológicos**; o en otras palabras, los cambios de la AOL están relacionados con el desarrollo y el envejecimiento⁶. La potencia de AOL va incrementándose rápidamente a medida que el organismo llega a la infancia, y se mantiene así durante la pubertad, para después disminuir significativamente durante la adolescencia tardía; sigue un decline gradual en la adultez y se exagera finalmente en la vejez. Dado que la potencia de la AOL durante el sueño no-MOR se correlaciona positivamente con la **profundidad** del sueño, organismos en la infancia son los que presentan el sueño más profundo, mientras que los viejos se despiertan con facilidad⁷. El concepto de profundidad del sueño se refiere al **umbral** que el sujeto tiene para despertar cuando se encuentra en un estado particular de sueño.

Aunque idealmente el diagnóstico de trastornos de sueño se debería hacer basado en datos provenientes del PSG, a veces no es posible o económico hacerlo. De este modo, se recurre a **cuestionarios estandarizados** donde el sujeto indica cuándo y cómo durmió y qué tan alerta se encuentra durante el día. Uno de los cuestionarios más utilizados es el denominado *índice Pittsburgh de calidad de sueño*. Asimismo, para medir la somnolencia diurna se usa frecuentemente la *escala Epworth*. A veces los reportes subjetivos concuerdan con los datos obtenidos en la clínica de sueño pero a veces difieren, ya que un sujeto puede reportar dormir muy mal aunque el PSG muestre lo contrario. También se le puede pedir al paciente que lleve un *diario de sueño* donde registra los tiempos y las horas que durmió, despertares, medicamentos que tomó, etc. El diario de sueño es un historial que el médico puede usar

para el diagnóstico y el tratamiento de los trastornos del sueño-vigilia.

Una característica fundamental de los diferentes estados de vigilancia es que se presentan en forma **cíclica**, de ahí el nombre de ciclo sueño-vigilia. Así, al sueño de ondas lentas le sucede el sueño MOR y éste frecuentemente conduce a un breve despertar que a su vez es seguido por otro episodio de sueño lento, repitiéndose la secuencia entera varias veces a lo largo de la fase de reposo. Esta alternancia de las fases de sueño es conocida como el **ritmo ultradiano** del sueño. A la *secuencia* o patrón temporal de los estados de vigilancia se le conoce como **arquitectura del sueño**. Normalmente, el cerebro despierto transita de la vigilia al sueño de ondas lentas, pero en la narcolepsia se pasa directamente al sueño MOR en lo que se conoce como periodos de inicio de sueño MOR o SOREMPs por sus siglas en inglés.

La vigilia y el sueño también oscilan casi cada 24 hrs, y a esto se le conoce como **ritmo circadiano**. Aunque el ritmo circadiano del sueño y la vigilia está normalmente acoplado a la alternancia del día y la noche, este ritmo se genera endógenamente en el hipotálamo sin necesidad del estímulo luminoso. El sueño ocurrirá predominantemente durante el día o la noche, dependiendo de la especie que se trate. Los humanos y la gran mayoría de primates duermen de noche, mientras que los roedores (ratas, cobayos y ratones) lo hacen de día. Para estudiar estos ritmos, se coloca a los sujetos en condiciones de aislamiento y frecuentemente en oscuridad continua. Bajo estas condiciones, se dice que el ritmo va a correr libremente (*free running*).

La cantidad de sueño o vigilia y el momento para dormir o despertarse resulta de una interacción dinámica entre la **regulación homeostática** o necesidad de dormir y la regulación temporal o **circadiana**. Por ejemplo, en humanos por la *mañana*, la presión homeostática para seguir durmiendo es mínima puesto que ya se durmió toda la noche, mientras que la señal circadiana para mantenerse alerta empieza a incrementarse, lo que da como resultado el despertar.

Por la *tarde* y a consecuencia de permanecer despiertos por varias horas, aumenta la necesidad de dormir pero es contrarrestada por la señal circadiana de alerta que ha alcanzado su punto máximo, de lo cual resulta

que podamos seguir despiertos. Empero, a medida que avanza la *noche*, la presión circadiana para mantenernos despiertos mengua rápidamente, mientras que la necesidad de dormir sigue incrementándose y da como resultado el inicio del sueño. Esta dinámica diaria está estrechamente acoplada con la regulación circádica de la *temperatura corpora*,^l ya que el sueño generalmente inicia poco después que la temperatura corporal desciende mientras que por el contrario despertamos cuando está en ascenso. Se sabe que la regulación circádica del sueño y otras variables fisiológicas la llevan a cabo neuronas del **núcleo supraquiasmático**⁸ cuyas neuronas poseen un reloj molecular que oscila casi cada 24 h pero que se sincroniza con la información luminosa proveniente de la retina⁹. Empero, no se sabe a ciencia cierta dónde ni qué neuronas llevan a cabo la regulación homeostática del sueño, aunque se postula factores como la **adenosina**¹⁰ o varios tipos de **citoquinas** como la *interleucina 1 beta* o el *factor de necrosis tumoral alfa*¹¹.

Como se acaba de mencionar, una característica fundamental del sueño-vigilia es su regulación homeostática. Esto se refiere a que el cerebro tiene mecanismos que regulan con cierta precisión *la cantidad* de sueño o vigilia que un individuo presenta a diario. Si por alguna razón un sujeto adulto permanece despierto mas allá de 16 h, fenómeno conocido como **privación de sueño**, gradualmente le será más y más difícil mantenerse despierto. De hecho, el incremento continuo en la necesidad de dormir o presión de sueño le hará imposible permanecer despierto en forma indefinida. Asimismo, no se puede dormir indefinidamente ya que normalmente después de 6-8 h de dormir en forma continua, la necesidad de despertarse se vuelve cada vez mayor. La regulación homeostática de la cantidad de sueño implica *compensación* cuando se ha dormido, ya sea muy poco o demasiado, y de esta forma la cantidad de sueño tiende a ser más o menos *constante*. Además, se ha visto que tanto el sueño no-MOR como el sueño MOR están homeostáticamente regulados. Se puede privar selectivamente a humanos y animales de cada uno de estos tipos de sueño y la compensación o **rebote de sueño** también será diferente según el caso. La *privación de sueño total* es un método muy utilizado como una forma de generar y medir la respuesta homeostática. Como el procedimiento

es muy estresante, o letal cuando se prolonga por semanas, generalmente se hace por corto tiempo y de la forma más “gentil” posible. Por ejemplo, en las ratas y ratones se utilizan estímulos suaves de diferentes modalidades cuando el experimentador detecta la presencia de signos de sueño en el EEG o en la conducta ¹². Algunos laboratorios han incluso automatizado esta operación ¹³. Para la privación de sueño MOR, se aprovecha la natural ocurrencia de la atonía muscular para colocar a los animales en pequeñas “islas” donde ellos mismos aprenden a reprimir la manifestación este tipo de sueño. Al hacerlo, evitan caer al agua cuando ocurre la atonía muscular del sueño MOR ¹⁴.

Para medir el nivel de somnolencia a lo largo del día se utiliza una prueba conocida como **latencias múltiples de sueño** o MSLT por sus siglas en inglés. En esta prueba a intervalos regulares (cada 2 h) y durante el día se le indica al sujeto que debe irse a la cama en un cuarto oscuro y quieto de manera que pueda medirse el tiempo o *latencia* que tarda en dormirse (tiene electrodos conectados todo el tiempo). Pacientes narcolépticos, con apnea de sueño, con insomnio severo o que se privaron de sueño presentan latencias muy cortas de menos de 5 min. Una variante en las ratas de MSLT consiste en privar de sueño total a los animales a intervalos regulares por 20 min. y después dejarlos dormir por otros 20 min. Esta prueba se hace durante el día que es cuando normalmente duermen las ratas y se mide la latencia, así como la cantidad de cada tipo de sueño, y se observa la dinámica temporal de la somnolencia ¹².

El estudio de la vigilia y el sueño no únicamente abarca el registro de la actividad eléctrica de múltiples unidades neuronales reflejada en el EEG.

Además se puede estudiar, en diferentes partes del cerebro íntegro y sin anestesia, la actividad eléctrica de *unidades neuronales* por separado. A este enfoque se le conoce como registro de **actividad unitaria**. Se ha descubierto que hay neuronas cuyos potenciales de acción (disparo) ocurren preferentemente durante la vigilia en general o están relacionadas con movimientos musculares o actividad sensorial. Estas neuronas dejan de disparar o disparan menos frecuentemente durante el sueño de ondas lentas, aunque muchas de ellas vuelven a disparar durante el sueño MOR ¹⁵. Estas neuronas son muy abundantes en muchas partes del cerebro incluida la

corteza. Hay otras neuronas en núcleos como el rafe dorsal, el locus coeruleus, o el tuberomamilar (TMN) que disparan principalmente durante la vigilia, mucho menos durante el sueño de ondas lentas, y permanecen totalmente silenciosas durante el sueño MOR ¹⁶. Por el contrario, hay otras neuronas localizadas en el cerebro basal anterior que disparan poco antes y durante el sueño de ondas lentas, y también hay neuronas en el tegmento dorsolateral mesopontino que sólo disparan durante el sueño MOR ¹⁷. Por supuesto, hay muchas neuronas cuyo patrón de disparo no guarda relación temporal con los estados de vigilancia; empero, se cree que las neuronas activas, específicamente durante cada estadio del ciclo sueño-vigilia, son las *generadoras* de estos estados. Recientemente, el registro de actividad unitaria ha evolucionado para marcar a las neuronas registradas. Este marcaje conocido como registro **yuxtacelular**, debido a que el electrodo se ubica en estrecho contacto con la membrana celular, lo que permite la identificación ulterior del fenotipo neuronal mediante **imunohistoquímica**. Esto es un avance importante ya que hay zonas como el *cerebro basal anterior* que son heterogéneas, presentando neuronas que se activan con el sueño conjuntamente con otras que se activan al estar despiertos. Usando registros yuxtacelulares en esa zona, se encontró que neuronas que disparan cuando el cerebro está despierto y cuando presenta sueño MOR se marcan para el neurotransmisor *acetilcolina*, lo cual corrobora la hipótesis de que la acetilcolina liberada en la corteza es importante para generar las frecuencias rápidas y de bajo voltaje que se observan en el EEG ¹⁸.

Imunohistoquímica

La técnica inmunohistoquímica ha sido aplicada ampliamente al estudio del sueño mucho antes de usarse para el registro yuxtacelular, para dar pistas acerca de la *identidad neuroquímica* de los grupos neuronales que regulan los estados de vigilancia. La inmunohistoquímica utiliza **anticuerpos** específicos para marcar proteínas o moléculas conjugadas a proteínas en tejido fijado. Gracias a este marcaje con anticuerpos, se sabe que las neuronas facilitadoras de la vigilia en el área perifornical del hipotálamo contienen el neurotransmisor oligopeptídico *hipocretina* ¹⁹. Adicionalmente, el marcaje con anticuerpos para el factor de transcripción *c-fos* ha permitido estudiar la

activación neuronal a nivel de todo el cerebro y en relación con los estados de vigilancia. Después de una hora de actividad, muchas neuronas expresan c-fos y por ende se usa esta proteína como marcaje de activación. Utilizando este marcaje, se descubrió que un grupo de neuronas ubicadas en la *parte ventrolateral del hipotálamo anterior* se activan después de que un animal ha dormido por mas de una hora ²⁰.

Una variante de la inmunohistoquímica, conocida como **imunofluorescencia**, utiliza anticuerpos que tienen acoplados marcadores fluorescentes. La inmunofluorescencia es muy útil cuando se quiere visualizar si en la misma neurona están presentes más de un marcador fenómeno que se llama *colocalización*. Por ejemplo, se puede visualizar si una neurona contiene la enzima para sintetizar un neurotransmisor y además si ha incorporado un trazador (ver más adelante) que indicaría la existencia de una conexión particular. La visualización simultánea de más de un fluoróforo dependerá de que cada marcador emita luz visible de diferente color cuando es excitado con radiación ultravioleta. Así, un marcador puede verse en verde (tiocianato de fluorescína o FITC), mientras otro brillará en rojo (rodamina). Cuando hay colocalización, la neurona brillará en amarillo al sobreponerse ambas imágenes. Este marcaje requiere de un microscopio de fluorescencia simple o uno mas complejo, conocido como *microscopio confocal* que elimina gran parte del reflejo y además permite diferenciar diferentes planos de profundidad. Por ejemplo, usando marcaje con inmunofluorescencia, se sabe que la zona donde se genera el sueño MOR es inervada simultáneamente por neuronas colinérgicas, serotoninérgicas y noradrenérgicas ²¹.

La técnica de marcaje neuronal ha evolucionado también con la adición de técnicas de biología molecular. Así, hoy en día es posible hacer que un marcador como la *proteína fluorescente verde* se exprese en un fenotipo neuronal específico. Los ratones transgénicos, expresando este gene en una estirpe neuronal específica, son muy útiles para hacer estudios en *rebanadas* cerebrales. En estos estudios se examinan las propiedades electrofisiológicas de las neuronas fluorescentes, ya sea en su estado basal o cómo estas propiedades cambian cuando al baño se le adicionan diferentes *fármacos*. Aunque hacer electrofisiología en

rebanadas de cerebro no modela plenamente lo que ocurre durante el sueño o la vigilia, es una aproximación y permite saber, por ejemplo, si las neuronas tienen determinado tipo de **receptor**, o entender sus propiedades de excitabilidad intrínseca. Neuronas que sintetizan *ácido gama-amino butírico* (GABA), y a las que se les ha modificado para expresar además la proteína fluorescente verde, han sido registradas en la zona donde se genera el sueño MOR. Se ha observado que algunas de estas neuronas fluorescentes son excitadas por un fármaco que mimetiza los efectos de la acetilcolina llamado *carbacol* ²². Este estudio confirma la hipótesis acerca de que las neuronas que liberan acetilcolina, así como las que liberan GABA participan regulando el sueño MOR..

Como en toda área de las neurociencias, el estudiar el sueño y la vigilia no sólo involucra saber las propiedades excitables, la identidad química y la localización de las neuronas que regulan estos estados; además se debe conocer las *conexiones* o *circuitos* que regulan estos estados. El conocer los circuitos neurales permite elaborar **modelos** que pretenden explicar cómo se regula los estados de vigilancia. Para esto, desde hace décadas se han utilizado diferentes tipos de **trazadores** neuronales. Estas moléculas, generalmente proteínas, son incorporadas por las neuronas y viajan ya sea de las terminales hacia el soma (retrógrados) o, por el contrario, del soma hacia las terminales (anterógrados). Una vez que el trazador se desplazó a lo largo de las terminaciones nerviosas, se utiliza inmunohistoquímica o inmunofluorescencia para visualizar las neuronas marcadas. Como ejemplo de un trazador retrógrado, tenemos a la *subunidad B de la toxina colérica* (CTB), y como ejemplo de un trazador anterógrado está la *aglutinina del frijol* o PHA-L. Usando ambos trazadores, se sabe que el *locus coeruleus* envía (proyecta) axones a gran parte del cerebro anterior, incluidas las zonas donde se ubican las neuronas activas durante el sueño en el hipotálamo anterior ²³. A su vez, estos centros del sueño conectan con el *locus coeruleus*, lo cual crea un circuito recíproco que se cree participa en la alternancia del sueño y la vigilia. Hay trazadores que son muy eficaces para marcar varias sinápsis (tras-sinápticos), de manera que pueden trazar más de una conexión o en otras palabras, marcan el *orden* de estas conexiones (1ero, 2do orden, etc.) Un ejemplo de esto

es el virus de pseudorabia porcina (PRV) que viaja en forma retrógrada²⁴. Los trazadores neuronales no son específicos para ningún fenotipo neuronal, lo que ha dado lugar al avance en la técnica de trazadores al utilizar herramientas de biología molecular. Recientemente se ha podido inducir la expresión selectiva de una proteína de fusión que consiste en de un trazador retrógrado (fragmento carboxílico de la toxina tetánica + la proteína verde fluorescente) en un fenotipo neuronal como las células hipocretinérgicas. Con esta nueva técnica, se sabe exactamente cuales son los aferentes de primer orden de estas neuronas²⁵.

No basta con elaborar modelos de los circuitos que regulan los estados de vigilancia. Es necesario también poner a prueba estos modelos, y una de las maneras mas directas y eficaces es haciendo una **lesión** experimental. Esta técnica consiste en *destruir* un grupo(s) de neuronas en una región(es) del cerebro, con la finalidad de observar si, después de ser removidas ciertas neuronas del circuito, se produce efectos sobre los estados de vigilancia, acordes con las predicciones de los modelos establecidos. Por ejemplo, basándose en datos farmacológicos y de registro unitario, se plantea que las neuronas del locus coeruleus son importantes para mantenerse alertas e inhibir el sueño MOR.

Así pues, su destrucción debiera producir un decremento en el nivel de vigilia, sobre todo causado por un incremento de sueño MOR. Resulta que la lesión del *locus coeruleus* no ha dado soporte a esta hipótesis; y por lo tanto, estos estudios demandan que se revise el modelo²⁶.

Al igual que otras disciplinas, la lesión experimental ha evolucionado a lo largo del tiempo. Inicialmente, se empezó haciendo *transecciones*, separando áreas muy amplias del cerebro con herramientas como agujas o escalpelos. Por ejemplo, usando transecciones, se descubrió que el sueño MOR se genera en el área del puente. Luego se utilizó corriente eléctrica para destruir áreas mucho mas restringidas del cerebro (milímetros). A este tipo de lesiones se les conoce como *electrolíticas*. Las lesiones electrolíticas destruyen tanto neuronas como fibras; y por lo tanto, tienen la desventaja de que afectan a otras neuronas distantes, pero cuyas fibras transitan a través de la zona donde ocurrió la lesión. Como alternativa a la lesión electrolítica, se descubrió que ciertos agonistas para

los receptores glutamatérgicos (kainato, ibotenato, etc.) producen destrucción de los cuerpos neuronales pero no afectan a las fibras en tránsito. El uso de estas *citotoxinas* modificó profundamente los modelos de circuitos reguladores del sueño. Basandose en lesiones electrolíticas y registros unitarios, se creía que la formación reticular medial del puente era crucial para generar el sueño MOR, sin embargo, luego de las lesiones citotóxicas de esta región, se descubrió que no era así. Usando kainato, se encontró que la zona generadora del sueño MOR estaba localizada en la parte *dorsolateral del tegmento mesopontino*²⁷.

Las lesiones citotóxicas tienen la desventaja de no discriminar entre diferentes fenotipos neuronales, y además no todas las neuronas son susceptibles de ser destruidas con ellas; por ejemplo TMN, o el *locus coeruleus*. Estas limitaciones dieron origen al desarrollo de otras citotoxinas más específicas para determinados fenotipos neuronales. Se han sintetizado toxinas mas específicas que afectan a neuronas catecolaminérgicas (dopamina y noradrenalina; 6-OHDA) o serotoninérgicas (5,7-DHT). La desventaja de éstas es que predominantemente destruyen las terminales; y en consecuencia, con el tiempo los cuerpos neuronales regeneran sus fibras. Como alternativa para destruir cuerpos y fibras neurales en forma específica, en la década pasada se empezaron a utilizar *anticuerpos* conjugados a la toxina *saporina*. El principio de estas *imunotoxinas* es que los anticuerpos se unen a moléculas en la superficie de la membrana celular (Ej. receptores), presentes sólo en un fenotipo neuronal. Así, cuando la neurona incorpora estas moléculas ingresará, también el anticuerpo conjugado a la toxina, lo que da como resultado la muerte celular. Un ejemplo muy usado de inmunotoxina es *192-IgG-saporina*. Ésta reconoce a un receptor presente casi exclusivamente en las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior. Se postulaba que estas neuronas eran importantes para el mantenimiento de la vigilia y para la respuesta homeostática del sueño. Sin embargo, la destrucción selectiva de las neuronas colinérgicas del cerebro anterior con 192-IgG-saporina no fue seguida de un incremento en el sueño o una merma del rebote de sueño¹². Más recientemente y usando herramientas de biología molecular, se han creado *lesiones genéticas*. En éstas, se inserta un gene letal como el fragmento de poliglutamina (ataxina) al promotor

de un gene que se expresara solamente en un fenotipo neuronal; como por ejemplo el gene que codifica para la hipocretina. En estos ratones trasgénicos, sólo las neuronas hipocretinérgicas morirán a causa de la expresión del gene de ataxina ²⁸. Estos ratones trasgénicos han confirmado que la degeneración específica de estas neuronas produce síntomas de **narcolepsia**.

Fundamental para entender cómo se regula el sueño y la vigilia es saber además qué *neurotransmisores*, *neuromoduladores* u *hormonas* están involucrados en estos fenómenos. Recuerdese que, en general, la señal nerviosa tiene un componente eléctrico que es estudiado por la **electrofisiología**, pero además tiene un componente humoral que es investigado por la **bioquímica**. Inicialmente, los estudios bioquímicos del sueño fueron rudimentarios y analizaban *homogenados* de partes del cerebro, lo que incluye el contenido intracelular y el extracelular. Posteriormente, se refinó el análisis para estudiar principalmente las concentraciones *extracelulares* ya que son éstas las más relevantes en la transmisión nerviosa. Para ello se colectan muestras de líquido extracelular mediante una técnica conocida como **microdiálisis**. La microdiálisis permite además estudiar cómo los neuromoduladores son liberados durante los estados de vigilia *in vivo*, a diferencia del análisis *postmortem* que se hacía anteriormente. La microdiálisis funciona con base en el principio de difusión pasiva de moléculas a favor de un *gradiente de concentración* y atravesando una membrana semipermeable. Las moléculas difunden hacia dentro de la membrana o sonda de microdiálisis, y como el líquido dentro de ésta fluye continuamente, se colectan estas moléculas fuera del cerebro. Para analizar, identificar y cuantificar los múltiples neurotransmisores colectados, se inyectan las muestras de microdiálisis en cromatógrafos líquidos de alta presión o HPLC. Usando estos métodos, se ha corroborado que, por ejemplo, la *serotonina*, que es una sustancia involucrada en la vigilia y que además inhibe al sueño MOR presenta en efecto niveles máximos en el cerebro cuando el animal está despierto, y mínimos cuando está en sueño MOR ²⁹.

Asimismo, también se analizan las concentraciones de algunos neuromoduladores peptídicos presentes en el líquido extracelular o en el líquido cefalorraquídeo con

otras técnicas como **radioinmunoensayo** (RIA), o la técnica de **ELISA**. Radioinmunoensayo y ELISA, utilizan *anticuerpos* para detectar y cuantificar polipéptidos específicos, como sería la hipocretina. La diferencia entre ambos es que uno usa anticuerpos acoplados a átomos radioactivos (radioinmunoensayo), mientras que en la técnica ELISA los anticuerpos se acoplan a enzimas que producen un colorante o que se ligan a un marcador fluorescente. Usando RIA y analizando el líquido cefalorraquídeo de sujetos con narcolepsia o en ratas con lesión genética de las neuronas de hipocretina, se observa que presentan niveles muy bajos o de plano no se detecta en ellos este péptido ³⁰. El análisis *postmortem* con inmunohistoquímica de pacientes ha confirmado que la razón de esto es porque las neuronas hipocretinérgicas degeneraron en algún momento de la vida de estos pacientes ³¹.

Los neurotransmisores que regulan el sueño o la vigilia, o cualquier otro fenómeno cerebral, actúan a través de múltiples **receptores** pre y/o postsinápticos. La **farmacología** permite estudiar la función de estos receptores. Existen numerosos tipos de receptores aun para el mismo neurotransmisor. En algunos casos, la activación de un tipo de receptor inhibe el impulso nervioso, mientras que el otro tipo lo facilita. Así pues, se necesita estimular o bloquear *selectivamente* sólo a un tipo para poder entender su papel. Para ello, la farmacología ha producido y sigue produciendo cientos de moléculas sintéticas que estimulan selectivamente a los múltiples tipos de receptores hallados en el cerebro. Los que activan el receptor se llaman *agonistas*, mientras que los que los inactivan se llaman *antagonistas*. La farmacología del sueño es una de las áreas mas investigadas y sus resultados son bastante profusos. En general, se puede afirmar que esta disciplina ha corroborado que los agonistas de los receptores para las *monoaminas* (noradrenalina, serotonina, histamina y dopamina) promueven la vigilia, mientras que los agonistas para los receptores para GABA o para la adenosina facilitan el sueño. Muchos de los hipnóticos mas usados basan su efectividad en reforzar la transmisión GABAérgica o bloquear los receptores para histamina tipo H₁ (defenhidramina). Asimismo, la estimulación de los receptores colinérgicos, en zonas específicas del tallo cerebral, induce sueño MOR mientras que los antidepresivos que favorecen la

transmisión de serotonina y/o noradrenalina inhiben este tipo de sueño.

La farmacología también ha posibilitado la aplicación de técnicas de **imagenología** al estudio del sueño. Por ejemplo, usando un radioisótopo conocido como [^{18}F] fluorodeoxiglucosa en combinación con tomografía de emisión de positrones/craneal computarizada, o PET/CT, se puede detectar en forma no invasiva y en tiempo real el consumo de glucosa en el cerebro. Se postula que la incorporación de fluorodeoxiglucosa se correlaciona con el grado de actividad neuronal. Usando PET/CT, también se puede producir imágenes en tiempo real de la activación de receptores cerebrales como receptores a dopamina o receptores para serotonina. Asimismo, se ha usado el PET/CT para medir el flujo sanguíneo regional en el cerebro, inyectando H_2^{15}O . Se postula que el flujo sanguíneo también se correlaciona con el grado de actividad neuronal. Al respecto, la resonancia magnética funcional, o **fMRI**, produce imágenes en tiempo real, en relación con cambios en el consumo de oxígeno y el flujo sanguíneo cerebral (contraste BOLD). Con estas técnicas, se sabe, por ejemplo, que cuando un sujeto presenta sueño de ondas lentas, el consumo de glucosa *disminuye* en muchas áreas del cerebro, aunque aumenta en otras como el hipotálamo o la amígdala, entre otras ³².

En las últimas dos décadas, la biología molecular también ha tenido gran impacto en el desarrollo de la farmacología, a través de generar ratones trasgénicos que no expresan un determinado tipo de receptor o neurotransmisor. A estos animales mutantes se les conoce como “**knockouts**” o KOS. Los KOS permiten corroborar hipótesis acerca de la función de un tipo específico de receptor, ya que cada gene codifica para un solo tipo de receptor, enzima o neurotransmisor en, el caso de los péptidos. Por ejemplo, se postula que la *cafeína* produce alertamiento a través de la inactivación de los receptores para adenosina. Sin embargo, hay dos tipos de receptores para adenosina que se han involucrado en la inducción del sueño, i.e. el tipo A_1 y el tipo A_{2A} . Usando ratones KOS se encontró que es el bloqueo del receptor A_{2A} el principal responsable del efecto de alertamiento de la cafeína, ya que los mutantes para ese receptor no se alertan, a diferencia de lo que ocurre en los KOS para el receptor A_1 ³³. Por supuesto

que la misma información se puede obtener usando antagonistas selectivos para cada receptor antes de la inyección de cafeína, siempre y cuando estos antagonistas sean verdaderamente selectivos. En general, se considera que los KOS producen datos más confiables.

Otro ejemplo de la utilidad de los KOS son los ratones mutantes para el gen que codifica para hipocretina. Fue gracias al estudio de estos ratones trasgénicos que accidentalmente se descubrió que la etiología de **narcolepsia/cataplexia** tiene mucho que ver con la deficiencia en la sinapsis mediada por hipocretina ³⁴.

Los ratones KOS no expresan el gen en cuestión de manera *constitutiva*, es decir, desde el desarrollo embrionario y por ende esta mutación está presente en todos los tejidos del organismo. Esto ha dado origen a que muchos de estos animales no sean viables o más frecuentemente no presenten cambios significativos en su fisiología o conducta, ya que otros genes análogos compensan la pérdida. Por ejemplo, la estimulación del receptor A_1 en el cerebro basal anterior induce sueño, mientras que el ratón mutante para este receptor duerme la misma cantidad que un ratón silvestre y no menos, como debiera de esperarse basándose en los datos farmacológicos ³⁵. Así pues, últimamente se están desarrollando **KOS condicionales** donde se inactiva el gen de manera local y a voluntad, de manera que se pueda saber si en verdad son los receptores de este tipo reguladores del sueño en el área del cerebro anterior ³⁶. Al respecto, también se ha estado trabajando con la técnica de la inactivación parcial y local del *ARN mensajero* que finalmente producirá una disminución significativa en la proteína que transcribe. A esta técnica se le conoce como **ARN de interferencia** o iRNA por sus siglas en inglés. Debido a que el desarrollo de los KOS condicionales o del ARN de interferencia es muy reciente, casi no se han aplicado para estudiar la regulación del sueño y la vigilia, pero sin duda se usarán más y más en el futuro.

Las técnicas de biología molecular han contribuido además a *mapear* receptores u otras proteínas en el cerebro. El mapeo de receptores se suele hacer mediante **hibridación *in situ*** o ISH, y es muy utilizado cuando no existe un buen anticuerpo para marcar al receptor. La ISH se basa en el acoplamiento de una secuencia complementaria para el ARN mensajero que transcribirá a la proteína que

se desea mapear. La tradicional ISH utiliza secuencias complementarias marcadas con isótopos radiactivos, mientras que recientemente se usan marcadores fluorescentes o anticuerpos que permiten obtener una mejor resolución a nivel celular. Gracias a la ISH se ha podido mapear la ubicación de los receptores a hipocretina, ya que los anticuerpos no son suficientemente específicos³⁷. Por otro lado, la ingeniería genética posibilita ahora estimular fenotipos neuronales específicos gracias a la expresión ectópica de *fotorreceptores*. A esta novedosa técnica se le conoce como **fotoestimulación optogenética**. Recientemente se crearon ratones transgénicos cuyas neuronas hipocretinérgicas expresan los fotorreceptores *rodopsina-2*. Así utilizando un rayo luminoso sobre estas neuronas trasfectadas, se logró estimularlas exclusivamente, y al hacerlo se observó que la latencia al despertar se redujo significativamente³⁸.

Por supuesto que no se puede dejar de mencionar que la biología molecular ha empezado a estudiar muy recientemente la expresión genética que está regulando el sueño y la vigilia. Con la ayuda de la técnica de los **microarreglos** o “chips” genómicos, se está estudiando esta expresión en cientos de miles de genes que se expresan en el cerebro de los roedores. En estos microchips se han fijado fragmentos de cADN o cARN para miles de genes, muchos de ellos cuya función no se conoce aún. El ARN mensajero total se extrae de una o más partes de tejido cerebral en diferentes condiciones experimentales (ej. vigilia vs. sueño) y luego se transcribe en forma reversa. Durante el mismo proceso, se puede marcar cada condición diferencialmente. Luego se expone este cADN a los fragmentos fijados en el microchip para que la unión específica ocurra; y finalmente, con la ayuda de lectores láser se cuantifican los niveles de expresión génica. Usando estos microchips genómicos, se ha descubierto que, en varias especies, la privación de sueño produce que cientos de genes aumenten su expresión a nivel de la corteza cerebral. De entre los más destacados, están los genes que participan en el metabolismo energético, la respuesta al estrés celular y la potenciación sináptica³⁹. Finalmente se está abriendo otra frontera metodológica para estudiar los cientos de miles de proteínas que son sintetizadas por las neuronas. Dado que son las proteínas las que llevan a cabo

las funciones celulares, el enfoque **proteómico**, como se le llama, será fundamental para entender más aún sobre cómo se regula el sueño y la vigilia.

Como podrá verse, el campo de estudio del sueño y la vigilia es amplísimo y se sigue expandiendo. En los artículos subsecuentes, se revisarán con más detalle algunos tópicos fundamentales de esta disciplina de las neurociencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Campbell S.S. and Tobler I. (1984) Animal sleep: a review of sleep duration across phylogeny. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 8, 269-300.
2. Lyamin O.I., Mukhametov L.M., Siegel J.M., Nazarenko E.A., Polyakova I.G., and Shpak O.V. (2002) Unihemispheric slow wave sleep and the state of the eyes in a white whale. *Behav. Brain Res.* 129, 125-129.
3. Mukhametov L.M., Lyamin O.I., and Polyakova I.G. (1985) Interhemispheric asynchrony of the sleep EEG in northern fur seals. *Experientia* 41, 1034-1035.
4. Yoon I.Y., Kripke D.F., Youngstedt S.D., and Elliott J.A. (2003) Actigraphy suggests age-related differences in napping and nocturnal sleep. *J Sleep Res.* 12, 87-93.
5. Greenspan R.J., Tononi G., Cirelli C., and Shaw P.J. (2001) Sleep and the fruit fly. *Trends Neurosci.* 24, 142-145.
6. Smith J.R., Karacan I., and Yang M. (1977) Ontogeny of delta activity during human sleep. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol* 43, 229-237.
7. Klerman E.B., Davis J.B., Duffy J.F., Dijk D.J., and Kronauer R.E. (2004) Older people awaken more frequently but fall back asleep at the same rate as younger people. *Sleep* 27, 793-798.
8. Mistlberger R.E. (2005) Circadian regulation of sleep in mammals: role of the suprachiasmatic nucleus. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 49, 429-454.
9. Hastings M.H. and Herzog E.D. (2004) Clock genes, oscillators, and cellular networks in the suprachiasmatic nuclei. *J Biol. Rhythms* 19, 400-

- 413.
10. Basheer R., Strecker R.E., Thakkar M.M., and McCarley R.W. (2004) Adenosine and sleep-wake regulation. *Prog. Neurobiol.* 73, 379-396.
11. Krueger J.M., Obal F.J., Fang J., Kubota T., and Taishi P. (2001) The role of cytokines in physiological sleep regulation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 933, 211-221.
12. Blanco-Centurion C., Xu M., Murillo-Rodriguez E., Gerashchenko D., Shiromani A.M., Salin-Pascual R.J., Hof P.R., and Shiromani P.J. (2006) Adenosine and sleep homeostasis in the Basal forebrain. *J. Neurosci.* 26, 8092-8100.
13. Guzman-Marin R., Suntsova N., Methippara M., Greiffenstein R., Szymusiak R., and McGinty D. (2005) Sleep deprivation suppresses neurogenesis in the adult hippocampus of rats. *Eur. J Neurosci.* 22, 2111-2116.
14. Blanco-Centurion C. and Salin-Pascual R.J. (2001) Extracellular serotonin levels in the medullary reticular formation during normal sleep and after REM sleep deprivation. *Brain Res.* 923, 128-136.
15. Detari L., Juhasz G., and Kukorelli T. (1984) Firing properties of cat basal forebrain neurones during sleep-wakefulness cycle. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 58, 362-368.
16. McGinty D.J. and Harper R.M. (1976) Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats. *Brain Res.* 101, 569-575.
17. el Mansari M., Sakai K., and Jouvet M. (1989) Unitary characteristics of presumptive cholinergic tegmental neurons during the sleep-waking cycle in freely moving cats. *Exp. Brain Res.* 76, 519-529.
18. Lee M.G., Hassani O.K., Alonso A., and Jones B.E. (2005) Cholinergic basal forebrain neurons burst with theta during waking and paradoxical sleep. *J. Neurosci.* 25, 4365-4369.
19. Peyron C., Tighe D.K., van den Pol A.N., de Lecea L., Heller H.C., Sutcliffe J.G., and Kilduff T.S. (1998) Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J. Neurosci.* 18, 9996-10015.
20. Sherin J.E., Shiromani P.J., McCarley R.W., and Saper C.B. (1996) Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. *Science* 271, 216-219.
21. Semba K. (1993) Aminergic and cholinergic afferents to REM sleep induction regions of the pontine reticular formation in the rat. *J. Comp Neurol.* 330, 543-556.
22. Brown R.E., McKenna J.T., Winston S., Basheer R., Yanagawa Y., Thakkar M.M., and McCarley R.W. (2008) Characterization of GABAergic neurons in rapid-eye-movement sleep controlling regions of the brainstem reticular formation in GAD67-green fluorescent protein knock-in mice. *Eur. J Neurosci.* 27, 352-363.
23. Luppi P.H., Aston-Jones G., Akaoka H., Chouvet G., and Jouvet M. (1995) Afferent projections to the rat locus coeruleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing with cholera-toxin B subunit and Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience* 65, 119-160.
24. Kerman I.A., Bernard R., Rosenthal D., Beals J., Akil H., and Watson S.J. (2007) Distinct populations of presympathetic-premotor neurons express orexin or melanin-concentrating hormone in the rat lateral hypothalamus. *J Comp Neurol.* 505, 586-601.
25. Sakurai T., Nagata R., Yamanaka A., Kawamura H., Tsujino N., Muraki Y., Kageyama H., Kunita S., Takahashi S., Goto K., Koyama Y., Shioda S., and Yanagisawa M. (2005) Input of orexin/hypocretin neurons revealed by a genetically encoded tracer in mice. *Neuron* 46, 297-308.
26. Blanco-Centurion C., Gerashchenko D., Salin-Pascual R.J., and Shiromani P.J. (2004) Effects of hypocretin2-saporin and antidopamine-beta-hydroxylase-saporin neurotoxic lesions of the dorsolateral pons on sleep and muscle tone. *European Journal of Neuroscience* 19, 2741-2752.
27. Webster H.H. and Jones B.E. (1988) Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II.

- Effects upon sleep-waking states. *Brain Res.* 458, 285-302.
28. Hara J., Beuckmann C.T., Nambu T., Willie J.T., Chemelli R.M., Sinton C.M., Sugiyama F., Yagami K., Goto K., Yanagisawa M., and Sakurai T. (2001) Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron* 30, 345-354.
29. Portas C.M., Bjorvatn B., and Ursin R. (2000) Serotonin and the sleep/wake cycle: special emphasis on microdialysis studies. *Prog. Neurobiol.* 60, 13-35.
30. Zhang S., Lin L., Kaur S., Thankachan S., Blanco-Centurion C., Yanagisawa M., Mignot E., and Shiromani P.J. (2007) The development of hypocretin (orexin) deficiency in hypocretin/ataxin-3 transgenic rats. *Neuroscience* 148, 34-43.
31. Thannickal T.C., Moore R.Y., Nienhuis R., Ramanathan L., Gulyani S., Aldrich M., Cornford M., and Siegel J.M. (2000) Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron* 27, 469-474.
32. Maquet P. (2000) Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography. *J. Sleep Res.* 9, 207-231.
33. Huang Z.L., Qu W.M., Eguchi N., Chen J.F., Schwarzschild M.A., Fredholm B.B., Urade Y., and Hayaishi O. (2005) Adenosine A2A, but not A1, receptors mediate the arousal effect of caffeine. *Nat. Neurosci.* 8, 858-859.
34. Chemelli R.M., Willie J.T., Sinton C.M., Elmquist J.K., Scammell T., Lee C., Richardson J.A., Williams S.C., Xiong Y., Kisanuki Y., Fitch T.E., Nakazato M., Hammer R.E., Saper C.B., and Yanagisawa M. (1999) Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 98, 437-451.
35. Stenberg D., Litonius E., Halldner L., Johansson B., Fredholm B.B., and Porkka-Heiskanen T. (2003) Sleep and its homeostatic regulation in mice lacking the adenosine A1 receptor. *J Sleep Res.* 12, 283-290.
36. Scammell T.E., Arrigoni E., Thompson M.A., Ronan P.J., Saper C.B., and Greene R.W. (2003) Focal deletion of the adenosine A1 receptor in adult mice using an adeno-associated viral vector. *J Neurosci.* 23, 5762-5770.
37. Marcus J.N., Aschkenasi C.J., Lee C.E., Chemelli R.M., Saper C.B., Yanagisawa M., and Elmquist J.K. (2001) Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J. Comp Neurol.* 435, 6-25.
38. Adamantidis A.R., Zhang F., Aravanis A.M., Deisseroth K., and de Lecea L. (2007) Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons. *Nature* 450, 420-424.
39. Cirelli C. (2006) Cellular consequences of sleep deprivation in the brain. *Sleep Med. Rev.* 10, 307-321.

Autor responsable:

Dr. Carlos A. Blanco Centurión

Harvard Medical School/ Boston VA HealthCare System.

1400 VFW Parkway Bld. 3 Rm. 2C-109

Boston, MA. USA 02132

Tel. (001)-857-203-6161

Fax. (001)-857-203-5717

carlos_blanco-centurion@hms.harvard.edu



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Influencia de la respuesta de estrés sobre el patrón de sueño

Influence of stress response on sleep pattern

Javier Velázquez Moctezuma, José Angel Rojas Zamorano, Enrique Esqueda León

Área de Neurociencias. Departamento de Biología de la Reproducción

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Velázquez-Moctezuma J, Rojas-Zamorano JA, Esqueda-León E.

Influencia de la respuesta de estrés sobre el patrón de sueño.

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 19-23.

INTRODUCCIÓN

Desde que Hans Selye publicó en 1936 su trascendental estudio sobre el síndrome producido por factores nocivos¹, el fenómeno ha sido objeto de análisis e investigación desde las más diversas perspectivas. Este fenómeno, que desde entonces se conoce como la respuesta del organismo ante factores estresantes y que coloquialmente se maneja como estrés, ha llamado la atención porque es un proceso que acompaña la vida cotidiana de los sujetos sin que se pueda evitar y sus consecuencias en la salud, dependerán de la habilidad de los sujetos para enfrentar estos retos cotidianos. Dicho de otra manera, todos los organismos vivos están expuestos a situaciones que les imponen una demanda extraordinaria a su funcionamiento. Esta demanda extraordinaria produce una respuesta generalizada del organismo. Cuando esta respuesta es adecuada, el organismo sobrevive y se fortalece. Cuando la respuesta no es manejada adecuadamente, el organismo enferma y empieza a declinar (Para revisión ver: ²).

Durante muchos años, la respuesta de estrés se consideró como un fenómeno necesariamente dañino y perjudicial. Asimismo, existió la concepción, ampliamente aceptada, de que esta respuesta era inespecífica y generalizada, de manera que, sin importar las peculiaridades de la situación, el organismo respondería siempre de la misma manera. Recientemente ambos conceptos han perdido vigencia. En los últimos lustros se ha venido acumulando evidencia experimental acerca de que las características de la respuesta al estrés dependerán de las características de la situación estresante. Es decir, las diferentes situaciones que pueden imponer demandas extraordinarias al organismo, producirán una respuesta acorde y adecuada para enfrentar esa demanda específica. Cuando una demanda diferente se presente, entonces la respuesta del organismo será diferente. Asimismo, el impacto de estas diferentes respuestas sobre el organismo, no es necesariamente nocivo, sino que, frecuentemente, es un elemento estimulante para varios subsistemas orgánicos.

Por otro lado, el fenómeno cíclico del sueño y la vigilia es un evento que implica la participación del organismo como un todo y es un proceso vital para el desarrollo adecuado de las funciones corporales. Por tanto, el sueño y la vigilia es un proceso que presenta relaciones recíprocas intensas con los fenómenos que afectan al organismo. Se ha venido evidenciando que las características del patrón de sueño en una noche particular, dependerán de las actividades y sucesos que el sujeto haya experimentado durante la vigilia previa.

LA RESPUESTA AL ESTRÉS

En sus primeros estudios, Selye y sus colaboradores definieron a grandes rasgos las características fundamentales de la respuesta ante un estresor, que incluía involución del timo, úlceras gástricas e hipertrofia suprarrenal. Asimismo, se empezó a definir el desarrollo temporal del fenómeno que presentaba una respuesta inmediata, que se denominó reacción de alarma, seguido por un período relativamente más amplio, que se llamó etapa de resistencia y una etapa final que se llamó etapa de resolución.

La primera etapa, la reacción de alarma, incluye toda la fenomenología que se desata inmediatamente ante la presencia del estímulo estresante y que, en términos generales, prepara al organismo para que pueda reaccionar adecuadamente ante una amenaza flagrante de su integridad. El sujeto podrá entonces tomar la decisión de enfrentar la amenaza o huir (flight or fight). En esta etapa, que va desde los primeros segundos hasta las primeras horas desde la presencia del estresor, se produce la activación de diferentes sistemas neuroendocrinos, destacando el sistema catecolaminérgico, el sistema opioidérgico y el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas.

La segunda etapa se concibe como un período en que el organismo inicia la activación de todos aquellos sistemas que tenderán a disminuir el impacto inicial del estresor. Este proceso también conocido como de adaptación, tendrá, entre otras consecuencias, que la presentación repetida del estresor ya no genere la respuesta en sus niveles iniciales, llegando aún a la total desaparición de la respuesta.

Finalmente, en caso de que los mecanismos de adaptación hayan tenido éxito, el organismo se recuperará en plenitud, mientras que si por el contrario, los mecanismos

de adaptación fracasan, entonces el organismo entra en un proceso de deterioro que lo llevará a diferentes formas de enfermedad que pueden llegar aún hasta la muerte.

En la naturaleza, este fenómeno aparece directamente ligado a la supervivencia en la mayoría de los casos. En los seres humanos, la relación entre estresor y respuesta presenta matices más sutiles, en donde la agresión física se presenta en menor proporción que la agresión psicológica que el individuo experimenta en su vida cotidiana (para revisión ver: ³).

ESTRÉS Y SUEÑO

En nuestras sociedades urbanas de la actualidad, el fenómeno del estrés presenta una amplia gama de connotaciones. El concepto original que implicaba una demanda física o un daño físico ha ido cambiando para incluir ahora de manera primordial, una tensión de origen psicológico. En los primeros estudios de Selye se apuntaba como un elemento central para provocar la respuesta de estrés, que hubiera un daño tisular. El organismo debía sufrir una herida para que la respuesta se desatara. Pocos años más adelante, Thompson demostró la existencia de lo que llamó estrés psicogénico, es decir, la posibilidad de evocar la respuesta de estrés sin que hubiera daño físico ⁴.

El experimento de Thompson implicaba un periodo de entrenamiento en el que las ratas aprendían que, después de señales luminosas o sonoras, recibirían una descarga eléctrica en las patas pero, también aprendían que podían huir hacia un compartimiento anexo y evitar el choque eléctrico. Una vez establecido este procedimiento entonces el paradigma cambiaba. Las señales de alarma se encendían pero ahora la ruta de escape se cerraba y el animal no podía huir. Sin embargo, el choque eléctrico no se aplicaba. En estas circunstancias, los animales presentan todos los componentes de la respuesta de estrés sin que tenga que mediar daño físico.

El componente psicológico en la generación de la respuesta de estrés, es en la actualidad, el origen primordial que afecta a los millones de seres humanos que experimentan este fenómeno. Aquí, debemos señalar que la tendencia reciente indica que experimentar estrés en la vida cotidiana no es sinónimo de enfermedad o desajuste, en virtud de que, aún circunstancias sumamente gratificantes

o reconfortantes, pueden generar esta respuesta.

Tomando en cuenta que la respuesta de estrés implica un esfuerzo adaptativo del organismo ante situaciones de demanda fuera de lo ordinario, entonces una gran cantidad de conductas estarán influidas por su presencia. El sueño no es la excepción. Tanto en seres humanos como en animales, se ha demostrado repetidamente que situaciones diversas a las que genéricamente se les califica como estresantes, generan modificaciones notables en el patrón de sueño. Sin embargo, dado que las demandas que diferentes condiciones, llamadas estresantes, imponen al organismo son variadas, entonces su efecto sobre el patrón de sueño es también variable. Así, se han demostrado condiciones estresantes que tienen un efecto promotor del sueño como el frío, el calor, los choques eléctricos, entre otros, mientras que existen también las situaciones que trastornan el sueño como el estrés crónico, leve e impredecible, entre otras.

A pesar de esta variabilidad, algunos paradigmas han resultado ser una herramienta de gran utilidad para el estudio de los mecanismos generadores de los diferentes componentes del sueño. Este es el caso de la inmovilización en las ratas, procedimiento que genera de manera muy consistente una elevación marcada del porcentaje de sueño MOR en las horas que siguen al procedimiento.

INMOVILIZACIÓN Y SUEÑO MOR

En 1991, el grupo de sueño de Lyon liderado por Michel Jouvet, publicó que, la inmovilización en ratas al colocarlas dentro de un cilindro por unas horas, provocaba una elevación de la cantidad de sueño MOR ⁵. Este reporte fue el inicio de una gran cantidad de trabajos que siguieron profundizando en la definición de este fenómeno y que hoy nos permiten tener un cuadro claro de cuáles son sus principales determinantes.

Así, se ha podido definir que este es un efecto que se genera en su máxima expresión con una o dos horas de inmovilización. Incrementar el tiempo de inmovilidad no da por resultado un mayor incremento de sueño MOR. La mayoría de los autores que han trabajado el tema han reportado un incremento de sueño MOR que no involucra al sueño de ondas lentas. Asimismo, se ha observado una marcada influencia del ciclo de luz-oscuridad, dándose un mayor incremento durante la fase oscura del ciclo.

La privación selectiva de sueño MOR utilizando la técnica de la isla produce un incremento notable de sueño MOR, sin embargo, cuando se comparan tiempos similares de privación de sueño MOR y de inmovilización, esta última produce un incremento mucho mayor de sueño MOR. Finalmente, como muchos otros estresores, su aplicación repetida produce una disminución de la respuesta.

Otra serie de experimentos utilizando el mismo paradigma ha mostrado evidencias de la participación de diferentes mediadores que determinan esta respuesta. Utilizando una neurotoxina selectiva para la destrucción de neuronas noradrenérgicas, la DSP-4, se mostró que el efecto desaparecía cuando se aplicaba en animales que recibieron una inyección intracerebral de esta droga. Cabe señalar que la sola administración de la droga y sin que se aplicara la inmovilización, no modificaba el porcentaje de sueño MOR ⁶. Adicionalmente, estudios utilizando la cuantificación voltamétrica de la liberación de serotonina, han revelado evidencias sugerentes de una participación importante de este neurotransmisor en la generación del efecto ⁷.

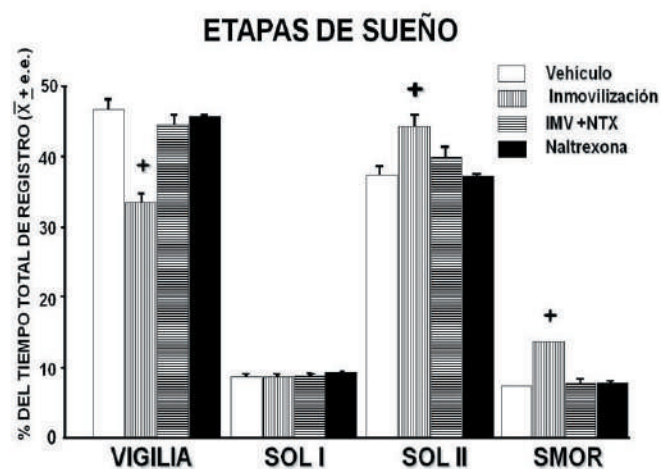


Figura 1. Efecto de la administración de Naltrexona en animales previamente estresados por inmovilización. Nótese que la inmovilización disminuye la vigilia y aumenta el sueño de ondas lentas II y el sueño MOR. La administración de naltrexona suprime el efecto. La sola administración de naltrexona no modificó la distribución de las etapas. + = $p < 0.05$ comparado con el vehículo.

Por otro lado, dado que una de las características de la respuesta de estrés es la activación de diferentes sistemas endocrinos como el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas y el sistema opioide ⁸, en nuestro laboratorio hemos

analizado la participación de este último en el incremento del sueño MOR después de la inmovilización. Para ello se realizó la administración de naltrexona un agente que selectivamente bloquea los receptores opioidérgicos. Cuando esta droga se administró sistémicamente, los porcentajes de sueño MOR no diferían de los observados en el grupo control. Sin embargo, al ser administrada en animales previamente estresados por inmovilización, el habitual incremento de sueño MOR no se presentó ⁹.

Por otro lado, evidencias relativamente recientes indican que el sistema de neuronas histaminérgicas localizadas en el núcleo tuberomamilar participa también en la respuesta al estrés. Este dato, agregado al bien conocido hecho de que la administración de antihistamínicos produce somnolencia en seres humanos, nos sugirió que la histamina pudiera estar involucrada también con el incremento de sueño MOR por inmovilización. La literatura que relaciona la histamina con el sueño presenta una gran cantidad de datos controversiales, sin embargo, un análisis puntual de los trabajos publicados indica que un efecto sistemático en todos los reportes, es la disminución de sueño MOR consecutivo a la administración de antihistamínicos.

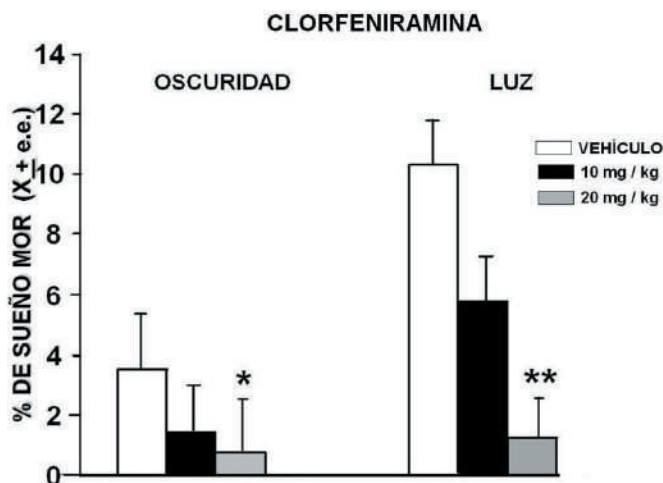


Figura 2. Efecto de la administración de clorfeniramina, un bloqueador selectivo de los receptores H₁ histaminérgicos, en el porcentaje de sueño MOR. Ambas dosis presentan una clara tendencia a disminuir, aunque solamente las más alta alcanza a ser significativamente diferente comparado con la administración del vehículo. * = $p < 0.01$; ** = $p < 0.05$ comparado con el vehículo.

Con estos antecedentes, hemos explorado también la participación del sistema histaminérgico en el efecto del estrés sobre el sueño MOR. Con un esquema similar al descrito

anteriormente, se administró clorfeniramina, un agente bloqueador selectivo de los receptores histaminérgicos H₁. Cabe señalar que este es un agente que disminuye el porcentaje de sueño MOR cuando se administra tanto en la etapa de luz como en la etapa de oscuridad. En animales que previamente habían sido estresados por inmovilización, la administración de clorfeniramina produce un efecto similar, es decir, no solamente bloquea en su totalidad cualquier indicio de incremento de sueño MOR, sino que produce una disminución significativa de su porcentaje. Estos estudios están en proceso de ser publicados.

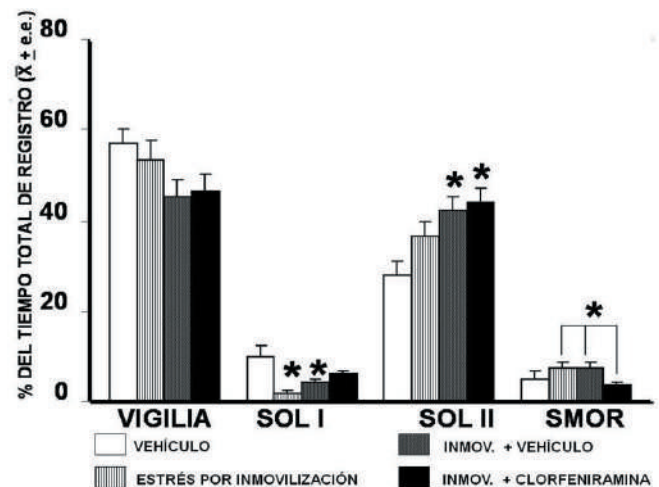


Figura 3. Administración de clorfeniramina en ratas estresadas por inmovilización. Obsérvese como la droga no solamente bloquea el incremento observado en el porcentaje de sueño MOR, sino que produce una inhibición significativa comparada con el grupo que recibió el vehículo. * = $p < 0.05$ comparado con el vehículo.

CONCLUSIÓN

Tanto la respuesta de estrés como el sueño, son fenómenos que involucran una respuesta global que tiende a recuperar el equilibrio homeostático cuando este se ha perdido. En este sentido, no es extraño que exista una fuerte interacción entre ambos fenómenos. Las vías neuronales y los mediadores químicos que están participando, al parecer son tan variados como lo son las situaciones generadoras de la respuesta al estrés. Sin embargo, esta relación nos abre ventanas para asomarnos a la regulación de ambos fenómenos, como en el caso del estrés por inmovilización y el sueño MOR. El estudio de estas interrelaciones nos informa de los mecanismos de regulación tanto de la respuesta al estrés como del sueño MOR y nos apunta ya que esta es una

compleja interacción de la que estamos apenas iniciando a definir sus componentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents *Nature* .1939;138:32.
2. Sapolsky R., Krey L.C., McEwen B.S. The neuroendocrinology of stress and aging: The glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocr. Rev.* 1986; 7:622-629.
3. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev.* 2007;87(3):873-904.
4. Thompson WR,Quinby S.Prenatal maternal anxiety and offspring behavior: parental activity and level of anxiety. *J Genet Psychol.* 1964;105:359-71.
5. Rampin C, Cespuglio R, Chastrette N, Jouvet M Immobilization stress induces a paradoxical sleep rebound in rat. *Neurosci Lett* 1991; 126: 113-118.
6. Gonzalez MM, Debilly G, Valantx JL, Jouvet M Sleep increase after immobilization stress: role of the noradrenergic locus coeruleus system in the rat. *Neurosci Lett* 1995;202: 5-8.
7. Cespuglio R, Sarda A, Gharib F, Houdouin F, Jouvet M. Voltammetric detection of the release of 5-hydroxindole compounds throughout the sleep sleep-waking cycle of the rat. *Exp Brain Res* 1990;80: 121-128.
8. De Souza, E.B, Appel NM Distribution of brain and pituitary receptors involved in mediating stress responses. In: Stress- Neurobiology and neuroendocrinology (eds. MR Brown, GF Koob and C Rivier), Marcel Dekker, New York, 1991; pp 91-117.
9. Vázquez-Palacios G, Velazquez-Moctezuma J. Effect of electric foot shocks, immobilization and corticosterone administration on sleep-wake pattern in the rat. *Physiol. Behav.* 2000; 71:23-28.

Autor responsable:

Dr. Javier Velázquez Moctezuma

Área de Neurociencias. Departamento de Biología de la Reproducción

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Mexico. DF. CP 09340.

Tel. 58044704

Correo electrónico: jvm@xanum.uam.mx



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Usando neurotoxinas para entender el circuito cerebral que regula el ciclo vigilia-sueño

Neurotoxins as tools to understand the circuit regulating sleep and wakefulness

Carlos A. Blanco Centuri3n, Priyattam J. Shiromani
Department of Neurology, Harvard Medical School, Harvard University,
Boston, Massachusetts, EUA

Blanco-Centuri3n CA, Shiromani PJ.
Usando neurotoxinas para entender el circuito cerebral que regula el ciclo vigilia-sueño
Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 24-36.

RESUMEN

Una de las m1s importantes metas de una disciplina cient1fica es elaborar modelos que expliquen los fen3menos que se est1n estudiando. As1, para el caso de la neurofisiolog1a del sue1o y la vigilia, hay varios modelos bien establecidos que intentan explicar c3mo est1 constituida, as1 como la forma en que opera la red neuronal que regula estos fen3menos. Por otro lado, los modelos no s3lo explican c3mo los fen3menos ocurren; sino adem1s; de ellos se pueden derivar predicciones basadas en su l3gica interna. Basados en estas predicciones, los modelos se ponen a prueba constantemente y as1 se constata su veracidad. En este cap1tulo se abordar1 algunos ejemplos de c3mo en nuestro laboratorio hemos usado neurotoxinas para probar directamente varias hip3tesis en donde se propone que ciertos grupos de neuronas regular1an los estados de vigilancia. El prop3sito de usar neurotoxinas es destruir estas neuronas para luego observar los efectos de estas lesiones sobre el sue1o y la vigilia. As1, se revisar1n las lesiones de las neuronas noradren1rgicas del *locus coeruleus*, de las histamin1rgicas de n3cleo tuberomamilar, de las neuronas colin1rgicas del cerebro basal anterior, as1

como finalmente se relatar1 los efectos sobre los estados de vigilancia de las lesiones m3ltiples de estos mismos grupos neuronales. Cada parte fue tratada brevemente y se dejaron los detalles metodol3gicos para ser consultados en las referencias respectivas.

Palabras clave: lesi3n, inmunotoxinas, saporina, locus coeruleus, n3cleo tuberomamilar, cerebro basal anterior

El locus coeruleus como regulador de la vigilia y el sue1o MOR.

El locus coeruleus (LC) es un peque1o y muy compacto agregado de varios miles de neuronas que se ubica en la porci3n lateral de la sustancia gris pontina justo al lado del cuarto ventr1culo (Fig. 1). Como neurotransmisor principal, las neuronas del LC usan noradrenalina. Las neuronas del LC inervan gran parte del cerebro y la m3dula espinal con excepci3n de los ganglios basales. Hay varias evidencias que indican que estas neuronas facilitan la vigilia. Por ejemplo, las neuronas del LC disparan predominantemente

durante este estado, mucho menos durante el sueño no-MOR y permanecen silenciosas durante el sueño MOR³. Durante la vigilia, estas neuronas disparan rítmicamente a baja frecuencia pero aceleran significativamente su actividad en asociación con estímulos de diferentes modalidades.

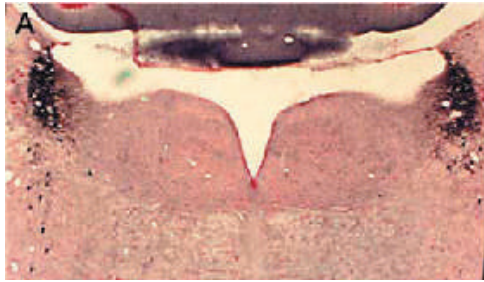


Figura 1. Las neuronas del LC como se observan en la ratona. Para visualizar estas neuronas, la sección se incubó con anticuerpos que se unen a la enzima dopamina-beta-hidroxilasa. Esta enzima sólo está presente en células que sintetizan noradrenalina como en el caso del LC. El color negro proviene de haber hecho reaccionar la enzima peroxidasa (conjugada indirectamente al anticuerpo primario) con su sustrato en presencia de níquel.

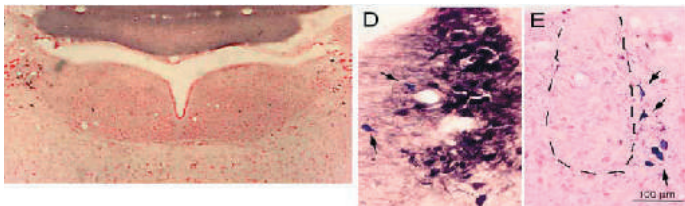


Figura 2. La inyección local de anti-DBH-saporina destruye la gran mayoría de las neuronas del LC. Panel A muestra una sección coronal a nivel del LC inmunomarcada para DBH (negro) y contrateñida con rojo neutro. Obsérvese como solo pocas neuronas noradrenérgicas sobrevivieron a la toxina. Panel D y E muestra una ampliación del LC en una ratona control (inyección de solución salina 0.9%) y una ratona lesionada respectivamente. Las células teñidas en azul marino son colinérgicas. Sólo las neuronas noradrenérgicas fueron destruidas por anti-DBH-saporina.

Asimismo, se activan transitoriamente cuando el sujeto presta atención a un estímulo novedoso o relevante⁴. Cuando las neuronas del LC son inhibidas, el EEG cambia de un patrón desincronizado a uno característico de sueño, mientras que cuando son estimuladas sucede lo contrario⁴⁻⁶. Más evidencia que apoya el papel alertador del LC proviene de la farmacología. Las inyecciones locales dentro del núcleo del septo medio de agonistas para los receptores adrenérgicos α_1 o beta producen alertamiento conductual y del EEG^{7,8}. Por el contrario, la simultánea administración central de antagonistas α_1 /beta producen EEG sincronizado y sedación conductual aun cuando los

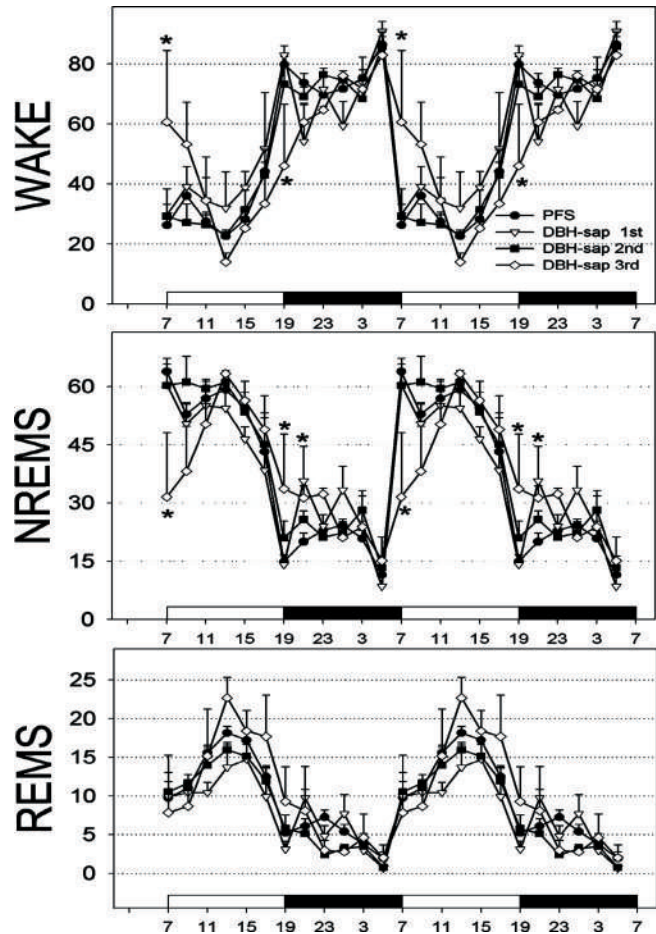


Figura 3. La destrucción de las neuronas noradrenérgicas del LC produce un aplanamiento del ritmo diario del sueño-vigilia. Los datos representan los porcentajes de tiempo que las ratas estuvieron en cada estado de vigilancia a lo largo de las 24 h. Las barras horizontales blancas representan el día y las negras la noche. Las ratas no lesionadas tienen mucho sueño no-MOR (NREMS) al inicio de la mañana, mientras que las ratas lesionadas durmieron significativamente menos. Al contrario, las ratas control están muy despiertas al inicio de la noche, mientras que las lesionadas estuvieron significativamente menos despiertas.

animales estén en un lugar novedoso⁷. Todo lo anterior ha dado origen a la hipótesis de que las neuronas noradrenérgicas del LC son componentes críticos dentro del circuito que regula el despertar y la atención⁹. Asimismo, se ha postulado que el LC está críticamente involucrado en la inhibición del sueño MOR¹⁰. Estas hipótesis se han visto reforzadas por el hallazgo reciente de que la principal eferencia de las neuronas hipocretinérgicas es hacia el LC¹¹ en donde hay además muchísimos receptores para este péptido¹². En este sentido se observó además que la administración local de hipocretina activa estas neuronas y produce una respuesta de alertamiento en conjunción con

la supresión del sueño MOR¹³. Dado que la deficiencia de hipocretina produce deficiencias para mantenerse despiertos debido a la intrusión anormal del sueño MOR, se postuló que este defecto debía de estar probablemente mediado por la falta de excitación del LC.

En nuestro laboratorio, pusimos a prueba esta hipótesis lesionando específicamente las neuronas del LC y midiendo los efectos de esta lesión sobre la cantidad de vigilia y sueño por tres semanas consecutivas¹⁴. Para ello utilizamos una neurotoxina conocida como anti dopamina-beta-hidroxilasa (DBH)-saporina. Esta toxina consiste de un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a la enzima que sintetiza noradrenalina (DBH). Este anticuerpo está conjugado al inhibidor de la síntesis proteica saporina. Puesto que DBH sólo está presente en neuronas noradrenérgicas, saporina será incorporada únicamente dentro de este tipo de neuronas sin matar a ningún otro fenotipo. Para asegurar que anti-DBH-saporina sólo destruyera a las neuronas noradrenérgicas del LC y no afectara a otros agregados noradrenérgicos presentes también dentro del tallo cerebral, se inyectó esta toxina directamente en el LC. Como se observa en la figura 2, la inyección de anti-DBH-saporina destruyó casi la totalidad de las neuronas noradrenérgicas del LC. Otros agregados noradrenérgicos no fueron afectados, así como tampoco otros fenotipos (colinérgicas) que se hallan en la proximidad del LC. En relación con los efectos sobre la vigilia y el sueño, se observó que en ningún momento los niveles diarios de vigilia o sueño se vieron alterados por la destrucción de las neuronas del LC. Este resultado contradice fuertemente la hipótesis de que estas neuronas son importantes para mantener el cerebro despierto. Por otro lado, aunque los niveles globales de vigilia no cambiaron, sí se observaron cambios en las cantidades de vigilia o sueño en relación con día o la noche (el ritmo circadiano del sueño-vigilia). Así, una semana después de la inyección de la toxina, cuando la muerte neuronal es casi completa, las ratas presentaron 35% más sueño de ondas lentas por la noche, que es cuando normalmente están despiertas. En contraste, durante el día, cuando normalmente duermen, tuvieron 13% menos sueño de ondas lentas y 27% menos de sueño MOR. Estos cambios desaparecieron después de la segunda semana y el único cambio que se observó durante la tercera semana fue que

las ratas estuvieron significativamente menos despiertas durante las primeras horas de la noche pero más despiertas durante las primeras horas del día. A este efecto se le conoce como aplanamiento del ritmo sueño-vigilia. Estos resultados invitan a un replanteamiento de la hipótesis del papel de LC en la regulación de la vigilia y el sueño. Nosotros proponemos que estas neuronas reciben información del reloj biológico del hipotálamo, y que esta aferencia regula su actividad de modo que el cerebro despierte y se mantenga alerta al inicio de la noche (en los animales nocturnos), pero luego que se duerma durante la mañana. Nuestra hipótesis se ve apoyada por los hallazgos recientes que indican que el LC recibe inervación indirecta del núcleo supraquiasmático a través del núcleo dorsomedial del hipotálamo. Esta aferencia excita las neuronas durante la noche pero las inhibe durante el día¹⁵. Así pues, en conclusión, nuestro experimento de lesión selectiva de las neuronas del LC sugiere que estas neuronas son importantes para regular la vigilia y el sueño durante las transiciones día↔noche pero no son críticas para mantenerse despierto en general o para inhibir el sueño MOR. Asimismo no creemos que la narcolepsia/cataplexia se deba a una deficiencia en la sinapsis mediada por hipocretina a nivel del LC.

El núcleo tuberomamilar como regulador de la vigilia.

Otro componente de la red neuronal que se postula regula a la vigilia es el núcleo tuberomamilar (TMN). Las neuronas del TMN utilizan el neurotransmisor histamina y son el único grupo de neuronas que sintetiza esta monamina. En forma similar al LC, el TMN es muy pequeño. Su parte principal se ubica en la porción ventrolateral del hipotálamo posterior extendiéndose medialmente hacia el tercer ventrículo (Fig. 4).

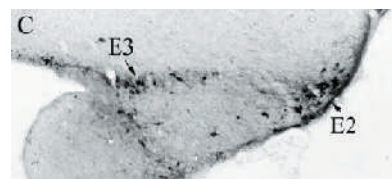


Figura 4. Aspecto hemilateral del TMN en la rata de laboratorio a nivel del hipotálamo posterior. Las neuronas histaminérgicas fueron marcadas con anticuerpos para la enzima adenosina-deaminasa, ya que esta colocaliza con la enzima histidina-decarboxilasa que es la que sintetiza histamina. E2 y E3 se refieren a subagregados de neuronas histaminérgicas, según la nomenclatura propuesta por Inagaki y cols.(1991)².

Al igual que el LC, las neuronas histaminérgicas del TMN inervan profusamente el cerebro y la medula espinal¹⁶. Hay varias evidencias que indican que el TMN ayuda a mantener el cerebro alerta. Por ejemplo, uno de los tipos de medicamentos más usados como inductores de sueño son los antagonistas de los receptores para histamina H_1 (ej. difenilhidramina). Además, los ratones mutantes para la enzima que sintetiza la histamina, histidina-decarboxilasa, muestran una respuesta de alertamiento deficiente cuando se exponen a un ambiente novedoso¹⁷. En contraste, las inyecciones centrales de histamina dentro del área preóptica del hipotálamo producen alertamiento¹⁸. Este hecho es muy significativo, ya que esta región del hipotálamo es muy importante para generar sueño sugiriendo que la histamina alerta el cerebro inhibiendo a las neuronas que generan el sueño. Por otro lado los registros unitarios indican que las neuronas del TMN exhiben su máximo nivel de actividad durante la vigilia que demanda atención mientras que están completamente silenciosas durante la vigilia pasiva, así como durante el sueño¹⁹. También se ha visto que estas neuronas permanecen activas durante la cataplexia, donde se observa parálisis muscular pero el sujeto permanece despierto²⁰. La cataplexia es uno de los síntomas cardinales de la narcolepsia. Recientemente también se ha postulado que las neuronas hipocretinérgicas producen alertamiento a través del TMN. Las neuronas hipocretinérgicas inervan fuertemente al TMN, y cuando se inyecta localmente en este núcleo hipocretina se observa un aumento en la liberación de histamina en conjunción con alertamiento²¹.

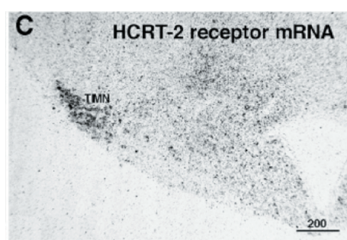


Figura 5. El TMN contiene el receptor tipo 2 para hipocretina. El ARN mensajero para este receptor fue marcado mediante hibridación *in situ*. Obsérvese como la expresión máxima del receptor esta concentrada en el TMN.

Esta respuesta no se observa en los mutantes que carecen a el receptor de histamina H_1 . Por todo lo anterior, se ha hipotetizado que las neuronas del TMN son críticas

para regular la vigilia. Una manera directa de probarlo es lesionando estas neuronas ya que de ser cierta la hipótesis, estos animales deben de exhibir reducciones significativas en la cantidad de vigilia. Nosotros decidimos destruir a las neuronas del TMN usando la neurotoxina hipocretina-2-saporina. Otras toxinas como las excitotoxinas no destruyen a las neuronas del TMN, probablemente porque no tiene suficientes receptores glutamatérgicos. En contraste, el TMN contiene una gran cantidad de receptores para hipocretina tipo 2 (Fig. 5). El principio de acción de la hipocretina-2-saporina determina que ligando hipocretina-2 se une específicamente a su receptor, y cuando el receptor se internaliza se lleva consigo a la saporina que intoxicará mortalmente a la neurona varios días después. Los efectos de la inyección local de hipocretina-2-saporina al TMN pueden verse en la figura 6. Esta toxina destruyó mas de 85% de las neuronas histaminérgicas dos semanas después de la inyección²². A pesar de la destrucción masiva del TMN, la cantidad de vigilia no se modificó en estos animales. No obstante, en el grupo lesionado se encontró una correlación positiva entre el número de neuronas histaminérgicas y la cantidad de tiempo que la rata puede permanecer despierta en forma continua. En otras palabras, ratas con muy pocas neuronas histaminérgicas no podían sostener la vigilia más allá de 10 min. Nuestros resultados contradicen la hipótesis que asume que el TMN es crítico para despertar el cerebro, aunque sugieren que las neuronas histaminérgicas ayudan a sostener la vigilia por periodos prolongados, quizá favoreciendo la atención sostenida.

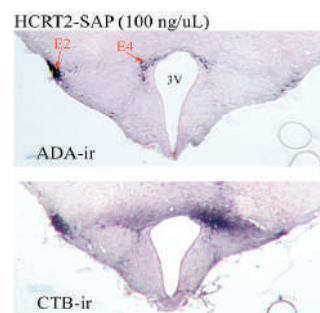


Figura 6. Efectos de la inyección local de hipocretina-2-saporina en el TMN. El panel superior muestra los efectos de la inyección unilateral donde se observa la casi completa desaparición de los grupos histaminérgicos E2 y E4. Simultáneamente, con la toxina, el trazador retrógrado CTB fue inyectado (panel inferior), y se observan muchas células marcadas en lado contralateral indicando que las fibras no fueron afectadas.

Las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior, la adenosina y la homeostasis del sueño.

Otra hipótesis bien establecida señala que las neuronas colinérgicas situadas en el cerebro basal anterior son críticas para producir la homeostasis del sueño²³. Este modelo se basa en varias observaciones. Primero, cuando a los animales se les priva de sueño, se observa un aumento proporcional en las concentraciones extracelulares de adenosina en el cerebro basal anterior. Asimismo, cuando se les deja dormir, estas concentraciones disminuyen en paralelo con el rebote de sueño^{24,25}. Además, cuando se inyecta localmente adenosina en esta área, se observa un aumento de sueño de ondas lentas muy similar al observado durante el rebote de sueño^{26,27}. Por otro lado, se ha visto que sólo las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior responden con espigas de calcio al aumento en las concentraciones de adenosina que ocurre durante la privación de sueño²⁸ así como la adenosina es capaz de inhibir a estas neuronas *in vitro*²⁹. En conjunto, se propone así que conforme la vigilia se prolonga, así mismo se activan las neuronas que facilitan este estado, y eso da como resultado una mayor liberación de adenosina. Ya que la adenosina es liberada en circunstancias de mayor demanda energética, es factible que cuanto más actividad tengan las neuronas, haya más adenosina extracelular. La mayor concentración de adenosina, entonces, inhibiría a las neuronas colinérgicas que a su vez produciría que estas neuronas promotoras de la vigilia se inactiven y luego entonces ocurra el rebote de sueño.

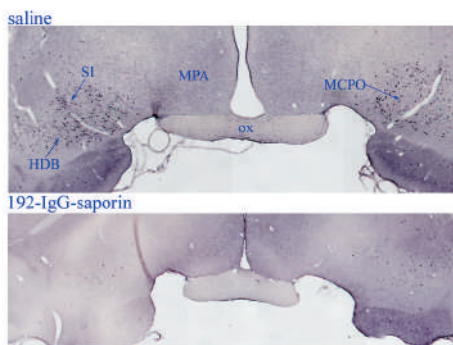


Figura 7. Efectos de la inyección intraventricular de 192-IgG-saporina sobre las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior. Las neuronas colinérgicas fueron marcadas usando un anticuerpo que se une a la enzima que sintetiza acetilcolina, i.e. acetilcolina-trasferasa. Esta sección coronal del corresponde al plano donde se ubican el núcleo magnocelular preóptico (MCPO)-substantia innominata (SI)-parte horizontal de la banda diagonal de Broca (HDB). OX=quiasma óptico.

No obstante, en el cerebro basal anterior hay otras neuronas que al igual que las colinérgicas se activan durante la vigilia³⁰. Más importante aún es que se ha comprobado que estas neuronas no-colinérgicas también son inhibidas por la adenosina²⁹. De modo que existe la posibilidad de que las neuronas no-colinérgicas también participen en la homeostasis del sueño. Nosotros nos dimos a la tarea de probar si la adenosina es capaz de inducir la respuesta homeostática del sueño en ausencia de las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior³¹. Hicimos esto destruyendo específicamente estas neuronas usando la inmunotoxina conocida como 192-IgG-saporina. Esta toxina es específica para las neuronas colinérgicas ya que se une a un tipo de receptor exclusivamente presente en ellas, i.e. el receptor de baja afinidad para el factor de crecimiento neuronal. Cuando inyectamos 192-IgG-saporina intraventricularmente, observamos que más de 95% de estas neuronas fueron destruidas (Fig.7). En estos animales, observamos además que la adenosina no se incrementó durante la privación de sueño (Fig. 8A), lo cual indica que las neuronas colinérgicas en efecto son responsables de este fenómeno. Sin embargo, en estas ratas lesionadas no hubo ninguna diferencia significativa en la respuesta homeostática del sueño. Nosotros medimos esta respuesta de varias formas como tiempo total de registro de sueño, midiendo además la acumulación gradual de la somnolencia usando la prueba de múltiples latencias, y también medimos la potencia delta durante el sueño no-MOR. La potencia delta es considerada el índice más confiable de la intensidad de la respuesta homeostática del sueño (Fig. 8B). Tampoco encontramos ninguna diferencia en los niveles basales de vigilia o sueño medidos a lo largo de las 24 hrs. Finalmente investigamos si la adenosina era capaz de inducir sueño en las ratas con destrucción de las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior. Para ello se inyectó localmente un agonista del receptor para adenosina tipo A₁ (N6-ciclohexiladenosina o simplemente CHA). Al respecto se ha postulado que es precisamente este receptor el responsable de mediar el efecto inductor de sueño²⁹. Después de inyectar dentro del cerebro basal anterior tres diferentes concentraciones de CHA, no observamos

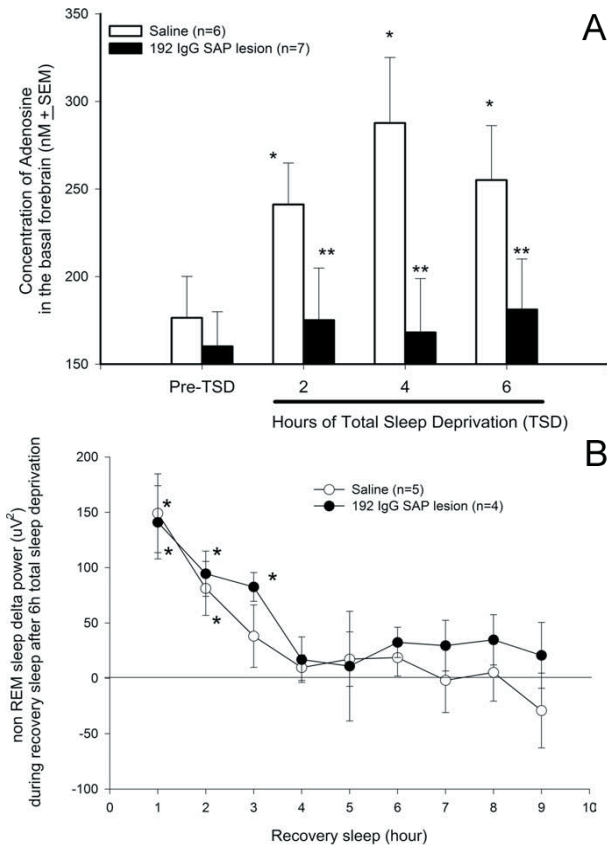


Figura 8. El panel A muestra las concentraciones extracelulares de adenosina medidas antes y durante 6 h de privación total de sueño en ratas lesionadas con 192-IgG-saporina o inyectadas con solución salina 0.9%. Las mediciones se hicieron mediante microdiálisis-HPLC-UV en la región colinérgica del cerebro basal anterior. El panel B muestra la dinámica de la potencia delta en ambos grupos de animales durante el rebote de sueño. Obsérvese cómo en ausencia de neuronas colinérgicas no hay incremento de adenosina pero sí existe una normal respuesta homeostática de sueño indicada por la potencia delta.

ninguna diferencia entre las respuestas medidas en las ratas lesionadas versus las no lesionadas (Fig. 9). En conjunto, estos resultados confirman que, durante la prolongación de la vigilia, la adenosina es liberada principalmente por las neuronas colinérgicas. Sin embargo, también indican que la adenosina induce la respuesta homeostática de sueño a través de las neuronas no-colinérgicas. Nuestra hipótesis se ve apoyada por varias observaciones previas. Primero, las neuronas colinérgicas únicamente representan 6% ³² de toda la población de neuronas que proyectan hacia la corteza. Además, se ha visto que la adenosina inhibe *in vivo* a gran cantidad de neuronas activas durante la vigilia ³³ y por ende es más probable que se trate de neuronas no-colinérgicas en su mayoría. Finalmente, los estudios *in vitro* también apoyan nuestra hipótesis ²⁹.

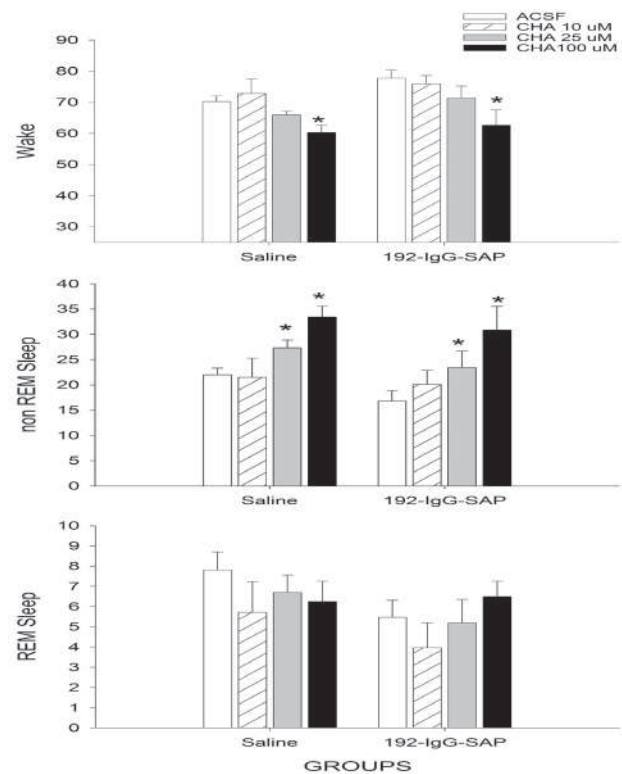


Figura 9. Efectos sobre la vigilia y el sueño de ondas lentas de la administración local del agonista para el receptor de adenosina A₁ CHA en ratas lesionadas con 192-IgG-saporina. CHA fue administrado vía microdiálisis reversa en el área colinérgica del cerebro basal anterior durante la noche, que es cuando las ratas están mayormente despiertas. Nótese cómo el efecto inductor de sueño se observa en las ratas con lesión de las neuronas colinérgicas con la misma magnitud medida en los controles.

El papel de la innervación hipocretinérgica hacia el área colinérgica del cerebro basal anterior en la vigilia

Otra hipótesis que se tiene respecto a cómo se mantiene el cerebro despierto tiene que ver con el papel de la innervación de las neuronas hipocretinérgicas hacia el cerebro basal anterior. En específico, se cree que las neuronas hipocretinérgicas excitan a las neuronas colinérgicas que a su vez mantienen la vigilia a nivel de la corteza y el hipocampo ³⁴⁻³⁶. Por mucho tiempo se ha sabido que la acetilcolina juega un papel importante en la regulación del EEG durante la vigilia. Por ejemplo se sabe que las neuronas colinérgicas disparan en sincronía con las frecuencias rápidas del EEG que se observan predominantemente durante la vigilia y el sueño MOR, i.e. actividad desincronizada ³⁷. Asimismo durante la actividad EEG desincronizada, la liberación de acetilcolina medida en la corteza es máxima ^{38,39}. Confirmando lo anterior durante la vigilia prolongada

se observa un fuerte marcaje para el factor de transcripción c-fos en la mayoría de las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior ⁴⁰. En contraste, el bloqueo de los receptores muscarínicos para acetilcolina con el alcaloide atropina produce un estado de sedación acompañado de la desaparición de frecuencias rápidas en el EEG ⁴¹. Igualmente las lesiones selectivas de las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior es seguida de una reducción en las frecuencias rápidas del EEG ⁴² y un decremento en la liberación de acetilcolina en esta región ⁴³.

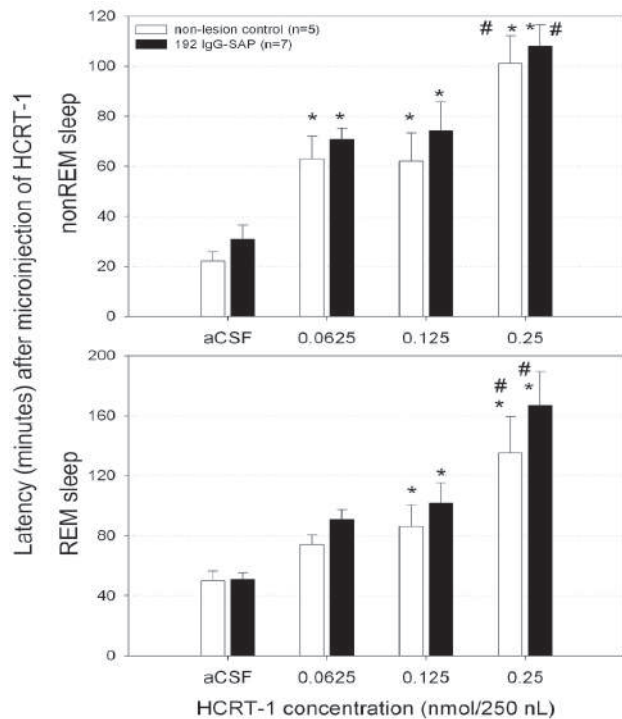


Figura 10. Efectos de la infusión local de hipocretina 1 en el cerebro basal anterior sobre la latencia al sueño en ratas con lesión colinérgica. La lesión de las neuronas colinérgicas se llevó a cabo con la inmunotoxina 192-IgG-saporina. Obsérvese que tanto las ratas lesionadas como las ratas controles tienen incrementos similares en la latencia a sueño después de la administración de hipocretina efecto alertador).

Por otro lado se han descrito la presencia de numerosos receptores para hipocretina en el cerebro basal anterior ⁴⁴ así como se ha constatado que su estimulación excita específicamente a las neuronas colinérgicas ³⁴ e induce una mayor liberación de acetilcolina en la corteza ⁴⁵. Finalmente se ha reportado que la infusión local de hipocretina dentro del área colinérgica produce un potente efecto de alertamiento ^{35,36}. Por todo lo anterior, se postula que la innervación hipocretinérgica de las neuronas

colinérgicas del cerebro basal anterior es importante para que el cerebro se mantenga alerta.

No obstante, además de las neuronas colinérgicas, existen otros tipos de neuronas corticofugales que también se activan durante la vigilia y por tanto pudiera ser que estas otras neuronas también sean innervadas y excitadas por las neuronas hipocretinérgicas. Nosotros decidimos poner a prueba esta hipótesis lesionando las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior para luego administrar localmente hipocretina y en seguida medir sus efectos sobre la cantidad de vigilia y sueño ⁴⁶. Como en el experimento anterior, lesionamos a las neuronas colinérgicas con una infusión intraventricular de 192-IgG-saporina. A las ratas lesionadas y los controles se les implantaron además cánulas guía en la región colinérgica del cerebro basal anterior. Dos semanas después de la lesión y en orden aleatorio, se inyectó a través de las cánulas guía varias dosis de hipocretina 1 para luego registrarse los estados de vigilancia por las siguientes tres horas. Lo que observamos es que las ratas con una destrucción mayor a 90% del total de las neuronas colinérgicas siguieron mostrando una respuesta de alertamiento dosis-dependiente de la misma magnitud medida en las ratas control (Fig. 10). Este resultado claramente indica que las neuronas no-colinérgicas son mucho mas relevantes para mediar la excitación que se origina por parte de las neuronas hipocretinérgicas. Nuestros resultados además refuerzan la hipótesis de que la vigilia es regulada predominantemente por este tipo de neuronas que son mayoría dentro del cerebro basal anterior. Asimismo, nosotros y otros laboratorios ^{47,48} hemos demostrado que la lesión de las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior no modifica la cantidad diaria de vigilia.

Lesión simultánea de tres sistemas involucrados en la regulación de la vigilia: poniendo a prueba el modelo del subibaja.

Como se acaba de describir en los subtítulos anteriores, la lesión selectiva de las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus, o de las neuronas histaminérgicas del tuberomamilar o de las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior no produjo una reducción significativa en la cantidad diaria de vigilia. Esto sugiere en primera

instancia que estos sistemas no son críticos para regular la vigilia como se postula. Sin embargo, existe también la posibilidad en todos los casos de que la vigilia no se haya visto afectada porque la red neuronal que regula este estado de vigilancia es altamente redundante y por ende resistente al daño. En otras palabras, es probable que esta red haya sido capaz de compensar rápidamente la pérdida de unos de sus componentes con la sobreactivación de otro (u otros) grupos neuronales cuya función es análoga. Por ejemplo es posible imaginar que, ante la repentina destrucción del *locus coeruleus*, otros grupos neuronales como el TMN o las neuronas colinérgicas del cerebro basal hayan incrementado sus niveles de actividad; y como consecuencia de tal cambio, la vigilia no se haya visto afectada significativamente. El mismo argumento vale para la destrucción de los otros grupos neuronales.

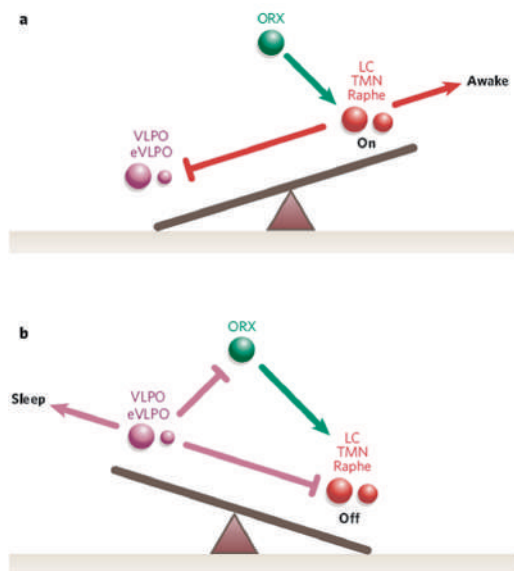


Figura 11. Modelo del subibaja o “flip-flop” de la regulación del ciclo sueño-vigilia. Este modelo elaborado por el grupo de Cliff Saper en la Universidad de Harvard ¹ propone que la interacción mutuamente inhibitoria entre dos redes neuronales produce que el cerebro este casi siempre despierto o dormido pero no en un estado intermedio.

Al respecto, uno de los modelos teóricos más citados, que pretende explicar cómo funcionan la red neuronal que regula la vigilia y el sueño, postula la participación conjunta de varios grupos neuronales cuyas funciones son análogas. A este modelo se le conoce en inglés como el modelo del *flip-flop*, y tomó su nombre

de la propiedad que tienen algunos circuitos eléctricos interconectados de transitar rápidamente de un estado a otro cuando en uno de los lados del circuito se produce una señal mas fuerte (Fig.11). Otra analogía simple de este modelo sería ilustrada en el modo de operación de un “subibaja”, donde dependiendo de la fuerza aplicada por cada uno de los dos ocupantes, será la posición en el subibaja. De este modo, el estado de la balanza casi siempre favorecerá a cualquiera de los lados pero raramente se encontrará en una posición equilibrada. El modelo del subibaja postula que por el lado de la vigilia hay al menos tres grupos neuronales cuya actividad producirá un despertar sostenido. Éstos son el LC, el TMN y el rafe dorsal este último agregado contiene neuronas que median su señal nerviosa usando la monoamina serotonina. Como elemento auxiliar, están las neuronas hipocretinérgicas u orexinérgicas (ORX) que también contribuyen a mantener despierto el cerebro. Por el lado de la regulación del sueño, están las neuronas de la parte ventrolateral del área preóptica del hipotálamo (VLPO). Ambos lados están interconectados y se inhiben mutuamente. La vigilia ocurriría cuando la actividad *combinada* del LC + TMN + Rafe + ORX sobrepasa la activación del VLPO al que además inhibirá. En un momento dado y por razones que no se explican claramente en el modelo, el equilibrio se invierte, ya que la actividad del VLPO sobrepasaría su inhibición y al mismo tiempo inhibiría a su contraparte, lo que da como resultado el sueño. Este modelo intenta explicar cómo el cerebro permanece la mayor parte del tiempo ya sea despierto o dormido y no en un estado intermedio. Además de utilizar evidencia electrofisiológica y anatómica, el modelo del subibaja se apoya en las observaciones de los modelos de roedores narcolépticos. En estos animales se observa una deficiencia significativa para mantenerse despierto (ataques de sueño) pero además un aumento muy significativo en el número de transiciones entre los estados ⁴⁹. Este último fenómeno produce que el sueño se fragmente y dé lugar a que el narcoléptico no pueda sostener ni la vigilia ni el sueño. El modelo predice que la pérdida o daño a cualquiera de los componentes de la red alterará el equilibrio en el otro sentido pero además lo hará más inestable. En otras palabras, la lesión de los componentes críticos de la red que regula la vigilia producirá un aumento del sueño

pero además un mayor número de cambios de estado, i.e. fragmentación del sueño.

Fenotipo	ChAT-ir (BF)		ADA-ir (TMN)		DBH-ir (LC)		HCRT-ir (LH)
Group	Cel No.	% lesión	Cel No.	% lesión	Cel No.	% lesión	Cel No.
Salina (n=6)	4084.8 (85.9)	0	707.8 (62.6)	0	462.3 (21.6)	0	1070.2 (35.1)
BF+TMN+LC (n=6)	443.5*** (95.2)	89.2 (2.3)	174.3*** (30.0)	75.4 (4.2)	31.2*** (9.3)	93.3 (2.0)	988.3 (115.3)
BF+LC (n=7)	159.9*** (29.6)	96.1 (0.7)	355.9*** (21.5)	49.7* (3.0)	26.1*** (5.8)	94.3 (1.2)	1020.3 (90.2)
TMN+LC (n=4)	2589.3*** (359.0)	36.6** (8.8)	175.8*** (30.6)	75.2 (4.3)	16.5*** (6.1)	96.4 (1.3)	1104.8 (115.4)

Tabla 1. Conteo semi-automatizado de diferentes fenotipos neuronales tres semanas después de la administración de tres diferentes conjugados de saporina. Se contaron el total de neuronas colinérgicas en once secciones correspondientes al cerebro basal anterior (CHAT-ir BF), siete secciones del hipotálamo posterior para estimar la lesión de las neuronas histaminérgicas (ADA-ir TMN), cuatro secciones del puente para las neuronas noradrérgicas (DBH-ir-LC) y seis secciones para contabilizar las neuronas hipocretinérgicas del hipotálamo lateral (HCRT-ir-LH). Los planos escogidos correspondieron a la extensión completa de la distribución de cada fenotipo neuronal.

Nosotros decidimos poner directamente a prueba el modelo del subbaja realizando lesiones múltiples del LC, el TMN y las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior⁵⁰. Aunque estas últimas no fueron consideradas en el modelo, otros investigadores explícitamente las han señalado como parte de la red neuronal que regula la vigilia^{51,52}. Para realizar estas lesiones, usamos otra vez las inmunotoxinas ya señaladas con anterioridad, sólo que en esta ocasión las inyectamos simultáneamente. Así pues, lesionamos las neuronas del *locus coeruleus* con anti-DBH-saporina, el TMN con hipocretina-2-saporina y las neuronas colinérgicas del cerebro basal con 192-IgG-saporina. Una vez realizadas estas inyecciones, registramos los estados de vigilancia de estas ratas por tres semanas consecutivas. Como controles, usamos inyecciones de solución salina a 0.9%. Como puede observarse en la tabla 1, se logró que un grupo de 6 ratas presentaran un porcentaje muy alto de lesión en los tres grupos neuronales. En este grupo fueron destruidas casi 90% de las neuronas colinérgicas del cerebro basal, 75% del TMN y más de 90% de las noradrérgicas del LC. En total, más de 85% de estas neuronas fueron destruidas. Asimismo, se formaron dos grupos más, donde uno tuvo más de 94% de lesión en las neuronas colinérgicas y las noradrenérgicas, pero la lesión del TMN fue de solamente de 50% (n=7). Otro grupo menos numeroso (n=4) consistió

de ratas donde las neuronas del TMN y las del LC fueron destruidas en su gran mayoría, pero las colinérgicas sólo fueron afectadas en 36%. A estos dos últimos grupos se les denominó doble lesión, mientras que al primero se le denominó triple lesión. Dada la importancia de las neuronas hipocretinérgicas y que además son susceptibles de ser destruidas usando hipocretina-2-saporina⁵³ también se decidió contar estas neuronas. En ningún caso se encontró que su número fuera significativamente diferente con respecto al grupo control.

	Wake	non-REM	REM sleep
Salina (n=6)	54.18 (0.99)	35.68 (0.89)	10.14 (0.25)
BF+LC (n=7)	52.27 (6.28)	39.48 (6.82)	8.25 (2.01)*
BF+TMN+LC (n=6)	50.89 (5.52)	41.59 (5.81)	7.52 (1.06)*

Tabla 2. Porcentaje diario de vigilia (wake), sueño no-MOR (Non-REM) y sueño MOR (REM sleep) en ratas control (saline), con doble (BF+LC) o triple lesión (BF+TMN+LC) de grupos neuronales que regulan la vigilia. Estos porcentajes fueron obtenidos con base en 48h de registro continuo tres semanas después de la inyección de tres diferentes neurotoxinas. Nótese como las lesiones no producen una afectación de la cantidad de vigilia.

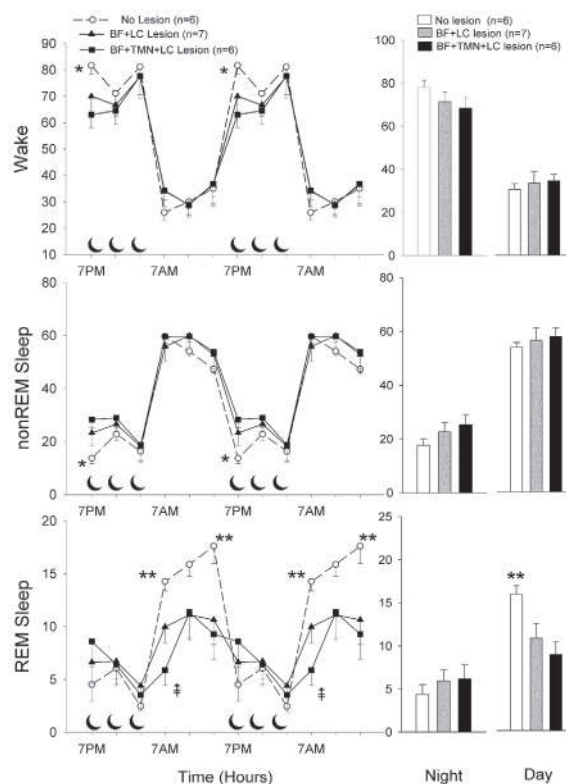


Figura 12. Porcentaje nocturno y diurno de los estados de vigilancia (paneles en la izquierda), así como ritmo diario (paneles en la derecha), tres semanas después de la lesión de tres diferentes grupos neuronales. Los animales con lesión triple tuvieron menos vigilia únicamente al inicio de la noche. Asimismo, durante el día tuvieron menos sueño MOR.

Contrario a lo que postula el modelo del subibaja, en las ratas que presentaron lesiones muy extensas de estos tres (o dos) grupos neuronales no se observó ningún cambio significativo en la cantidad diaria de vigilia o sueño de no-MOR aunque el sueño MOR sí se redujo (tabla 2). Cuando se hizo un análisis de las cantidades totales durante el día o la noche, o los porcentajes cada cuatro horas, se observó que en los animales con triple lesión, la cantidad de vigilia se redujo significativamente sólo durante las cuatro horas posteriores al inicio de la noche; y asimismo, durante el día se redujo la cantidad de sueño MOR (Fig. 12). Se hizo además un análisis de la arquitectura de los diferentes estados de vigilancia y se encontró que los animales con triple o doble lesión mostraron significativamente menos episodios, así como éstos duraron significativamente más que los del grupo control. Además, se encontró una correlación altamente significativa entre el mayor número de neuronas pertenecientes a estos tres grupos y un mayor número de episodios. Por el contrario, se vio que a mayor número de neuronas, más breve fue la duración de estos episodios. En otras palabras, los animales con lesión triple o doble tienen menos transiciones entre los estados de vigilancia. Estos resultados contradicen totalmente los postulados del modelo del subibaja, ya que los animales con destrucción de gran parte del circuito que regula la vigilia deberían tener muchísimos más cambios de estado (subidas y bajadas) y no menos.

Nuestra interpretación de estos resultados es que parte de la red neuronal que regula la vigilia, la cual se compone de las neuronas del LC, el TMN y las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior, es muy importante para que el cerebro se mantenga despierto pero sólo durante las primeras horas del periodo activo. Empero, después otros grupos neuronales son los principales responsables de esta función en particular, nosotros creemos que las neuronas hipocretinérgicas toman un papel más crítico en este momento del día. Como alternativa al modelo del subibaja que postula que la red neuronal está constituida por elementos análogos, nosotros proponemos una dinámica donde la red neuronal se *complementa* en diferentes tiempos. Como soporte de esta idea, se sabe que la noradrenalina y la serotonina inhiben a las neuronas hipocretinérgicas, mientras que la histamina y la acetilcolina

no producen efecto sobre estas neuronas ⁵⁴. La inhibición o la carencia de efectos de estos neurotransmisores sobre las neuronas hipocretinérgicas no es compatible con un modelo que plantea una red neuronal que regula la vigilia trabajando en sincronía pero sí es compatible con una red que opera en forma complementaria. Este nuevo modelo explicaría además por qué hubo una reducción durante el día del sueño MOR ya que las neuronas hipocretinérgicas inhiben poderosamente este tipo de sueño; y al no existir en los animales lesionados el grupo que inhiban a estas, el LC, daría como consecuencia que este tipo de sueño se verá significativamente inhibido. Esta idea de relativa independencia dentro de la red neuronal que controla la vigilia se ve apoyada por los experimentos de dobles KO para hipocretina y noradrenalina. En estos animales no se observa sinergismo en los efectos de ambas mutaciones, así como no se vio que duerman más que los ratones silvestres ⁵⁵. Asimismo, creemos que estos cuatro grupos neuronales constituyen sistemas de respuesta rápida del cerebro que le permiten despertarse o dormirse con más facilidad o alternatively mantenerse despierto por más tiempo en función de demandas cambiantes del medio externo o interno. Nuestros resultados, en conjunto con las observaciones de KO para noradrenalina ⁵⁶, histamina ¹⁷ o la estimulación selectiva de las neuronas hipocretinérgicas ⁵⁷ así lo corroboran.

En conclusión, brevemente se ha revisado cómo el uso de toxinas selectivas ha permitido poner a prueba en forma directa y económica modelos establecidos que intentan explicar cómo opera la red neuronal que regula los estados de vigilancia. El poner a prueba estos modelos resulta indispensable para mejorarlos o constatar su validez.

BIBLIOGRAFÍA

1. Saper C.B., Scammell T.E., and Lu J. (2005) Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* 437, 1257-1263.
2. Inagaki N., Toda K., Taniuchi I., Panula P., Yamatodani A., Tohyama M., Watanabe T., and Wada H. (1990) An analysis of histaminergic efferents of the tuberomammillary nucleus to the medial preoptic area and inferior colliculus of the

- rat. *Exp. Brain Res.* 80, 374-380.
3. Aston-Jones G. and Bloom F.E. (1981) Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J. Neurosci.* 1, 876-886.
4. Foote S.L., Aston-Jones G., and Bloom F.E. (1980) Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 77, 3033-3037.
5. Berridge C.W. and Foote S.L. (1991) Effects of locus coeruleus activation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus. *J. Neurosci.* 11, 3135-3145.
6. Berridge C.W., Page M.E., Valentino R.J., and Foote S.L. (1993) Effects of locus coeruleus inactivation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus. *Neuroscience* 55, 381-393.
7. Berridge C.W., Isaac S.O., and Espana R.A. (2003) Additive wake-promoting actions of medial basal forebrain noradrenergic $\alpha 1$ - and β -receptor stimulation. *Behav. Neurosci.* 117, 350-359.
8. Berridge C.W. and Foote S.L. (1996) Enhancement of behavioral and electroencephalographic indices of waking following stimulation of noradrenergic β -receptors within the medial septal region of the basal forebrain. *J. Neurosci.* 16, 6999-7009.
9. Berridge C.W. and Waterhouse B.D. (2003) The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 42, 33-84.
10. Crochet S. and Sakai K. (1999) α -2 adrenoceptor mediated paradoxical (REM) sleep inhibition in the cat. *Neuroreport* 10, 2199-2204.
11. Peyron C., Tighe D.K., van den Pol A.N., de Lecea L., Heller H.C., Sutcliffe J.G., and Kilduff T.S. (1998) Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J. Neurosci.* 18, 9996-10015.
12. Greco M.A. and Shiromani P.J. (2001) Hypocretin receptor protein and mRNA expression in the dorsolateral pons of rats. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 88, 176-182.
13. Bourgin P., Huitron-Resendiz S., Spier A.D., Fabre V., Morte B., Criado J.R., Sutcliffe J.G., Henriksen S.J., and de Lecea L. (2000) Hypocretin-1 modulates rapid eye movement sleep through activation of locus coeruleus neurons. *J. Neurosci.* 20, 7760-7765.
14. Blanco-Centurion C., Gerashchenko D., Salin-Pascual R.J., and Shiromani P.J. (2004) Effects of hypocretin-2-saporin and antidopamine- β -hydroxylase-saporin neurotoxic lesions of the dorsolateral pons on sleep and muscle tone. *European Journal of Neuroscience* 19, 2741-2752.
15. Aston-Jones G., Chen S., Zhu Y., and Oshinsky M.L. (2001) A neural circuit for circadian regulation of arousal. *Nat. Neurosci.* 4, 732-738.
16. Panula P., Pirvola U., Auvinen S., and Airaksinen M.S. (1989) Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience* 28, 585-610.
17. Parmentier R., Ohtsu H., Djebbara-Hannas Z., Valatx J.L., Watanabe T., and Lin J.S. (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.
18. Lin J.S., Sakai K., and Jouvet M. (1994) Hypothalamo-preoptic histaminergic projections in sleep-wake control in the cat. *Eur. J. Neurosci.* 6, 618-625.
19. Takahashi K., Lin J.S., and Sakai K. (2006) Neuronal activity of histaminergic tuberomammillary neurons during wake-sleep states in the mouse. *J. Neurosci.* 26, 10292-10298.
20. John J., Wu M.F., Boehmer L.N., and Siegel J.M. (2004) Cataplexy-active neurons in the hypothalamus: implications for the role of histamine in sleep and waking behavior. *Neuron* 42, 619-634.
21. Huang Z.L., Qu W.M., Li W.D., Mochizuki T., Eguchi N., Watanabe T., Urade Y., and Hayaishi O. (2001) Arousal effect of orexin A depends on

- activation of the histaminergic system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 98, 9965-9970.
22. Gerashchenko D., Chou T.C., Blanco-Centurion C.A., Saper C.B., and Shiromani P.J. (2004) Effects of lesions of the histaminergic tuberomammillary nucleus on spontaneous sleep in rats. *Sleep* 27, 1275-1281.
23. Basheer R., Strecker R.E., Thakkar M.M., and McCarley R.W. (2004) Adenosine and sleep-wake regulation. *Prog. Neurobiol.* 73, 379-396.
24. Porkka-Heiskanen T., Strecker R.E., and McCarley R.W. (2000) Brain site-specificity of extracellular adenosine concentration changes during sleep deprivation and spontaneous sleep: an in vivo microdialysis study. *Neuroscience* 99, 507-517.
25. Porkka-Heiskanen T., Strecker R.E., Thakkar M., Bjorkum A.A., Greene R.W., and McCarley R.W. (1997) Adenosine: a mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. *Science* 276, 1265-1268.
26. Basheer R., Porkka-Heiskanen T., Stenberg D., and McCarley R.W. (1999) Adenosine and behavioral state control: adenosine increases c-Fos protein and AP1 binding in basal forebrain of rats. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 73, 1-10.
27. Portas C.M., Thakkar M., Rainnie D.G., Greene R.W., and McCarley R.W. (1997) Role of adenosine in behavioral state modulation: a microdialysis study in the freely moving cat. *Neuroscience* 79, 225-235.
28. Basheer R., Arrigoni E., Thatte H.S., Greene R.W., Ambudkar I.S., and McCarley R.W. (2002) Adenosine induces inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-mediated mobilization of intracellular calcium stores in basal forebrain cholinergic neurons. *J. Neurosci.* 22, 7680-7686.
29. Arrigoni E., Chamberlin N.L., Saper C.B., and McCarley R.W. (2006) Adenosine inhibits basal forebrain cholinergic and noncholinergic neurons in vitro. *Neuroscience* 140, 403-413.
30. Duque A., Balatoni B., Detari L., and Zaborszky L. (2000) EEG correlation of the discharge properties of identified neurons in the basal forebrain. *J. Neurophysiol* 84, 1627-1635.
31. Blanco-Centurion C., Xu M., Murillo-Rodriguez E., Gerashchenko D., Shiromani A.M., Salin-Pascual R.J., Hof P.R., and Shiromani P.J. (2006) Adenosine and sleep homeostasis in the Basal forebrain. *J. Neurosci.* 26, 8092-8100.
32. Gritti I., Henny P., Galloni F., Mainville L., Mariotti M., and Jones B.E. (2006) Stereological estimates of the basal forebrain cell population in the rat, including neurons containing choline acetyltransferase, glutamic acid decarboxylase or phosphate-activated glutaminase and colocalizing vesicular glutamate transporters. *Neuroscience* 143, 1051-1064.
33. Alam M.N., Szymusiak R., Gong H., King J., and McGinty D. (1999) Adenosinergic modulation of rat basal forebrain neurons during sleep and waking: neuronal recording with microdialysis. *J. Physiol* 521 Pt 3, 679-690.
34. Eggermann E., Serafin M., Bayer L., Machard D., Saint-Mleux B., Jones B.E., and Muhlethaler M. (2001) Orexins/hypocretins excite basal forebrain cholinergic neurones. *Neuroscience* 108, 177-181.
35. Espana R.A., Baldo B.A., Kelley A.E., and Berridge C.W. (2001) Wake-promoting and sleep-suppressing actions of hypocretin (orexin): basal forebrain sites of action. *Neuroscience* 106, 699-715.
36. Thakkar M.M., Ramesh V., Strecker R.E., and McCarley R.W. (2001) Microdialysis perfusion of orexin-A in the basal forebrain increases wakefulness in freely behaving rats. *Arch. Ital. Biol.* 139, 313-328.
37. Lee M.G., Manns I.D., Alonso A., and Jones B.E. (2004) Sleep-wake related discharge properties of basal forebrain neurons recorded with micropipettes in head-fixed rats. *J. Neurophysiol.* 92, 1182-1198.
38. Jasper H.H. and Tessier J. (1971) Acetylcholine liberation from cerebral cortex during paradoxical (REM) sleep. *Science* 172, 601-602.
39. Szerb J.C. (1967) Cortical acetylcholine release and electroencephalographic arousal. *J. Physiol*

- 192, 329-343.
40. Greco M.A., Lu J., Wagner D., and Shiromani P.J. (2000) c-Fos expression in the cholinergic basal forebrain after enforced wakefulness and recovery sleep. *Neuroreport* 11, 437-440.
41. Longo V.G. (1966) Behavioral and electroencephalographic effects of atropine and related compounds. *Pharmacol. Rev.* 18, 965-996.
42. Berntson G.G., Shafi R., and Sarter M. (2002) Specific contributions of the basal forebrain corticopetal cholinergic system to electroencephalographic activity and sleep/waking behaviour. *Eur. J. Neurosci.* 16, 2453-2461.
43. Gutierrez H., Gutierrez R., Silva-Gandarias R., Estrada J., Miranda M.I., and Bermudez-Rattoni F. (1999) Differential effects of 192IgG-saporin and NMDA-induced lesions into the basal forebrain on cholinergic activity and taste aversion memory formation. *Brain Res.* 834, 136-141.
44. Marcus J.N., Aschkenasi C.J., Lee C.E., Chemelli R.M., Saper C.B., Yanagisawa M., and Elmquist J.K. (2001) Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J. Comp Neurol.* 435, 6-25.
45. Fadel J., Pasumarthi R., and Reznikov L.R. (2005) Stimulation of cortical acetylcholine release by orexin A. *Neuroscience* 130, 541-547.
46. Blanco-Centurion C., Shiromani A., Winston E., and Shiromani P.J. (2006) Effects of hypocretin-1 in 192-IgG-saporin-lesioned rats. *Eur. J. Neurosci.* 24, 2084-2088.
47. Bassant M.H., Apartis E., Jazat-Poindessous F.R., Wiley R.G., and Lamour Y.A. (1995) Selective immunolesion of the basal forebrain cholinergic neurons: effects on hippocampal activity during sleep and wakefulness in the rat. *Neurodegeneration.* 4, 61-70.
48. Kapas L., Obal F., Jr., Book A.A., Schweitzer J.B., Wiley R.G., and Krueger J.M. (1996) The effects of immunolesions of nerve growth factor-receptive neurons by 192 IgG-saporin on sleep. *Brain Res.* 712, 53-59.
49. Mochizuki T., Crocker A., McCormack S., Yanagisawa M., Sakurai T., and Scammell T.E. (2004) Behavioral state instability in orexin knock-out mice. *J. Neurosci.* 24, 6291-6300.
50. Blanco-Centurion C., Gerashchenko D., and Shiromani P.J. (2007) Effects of saporin-induced lesions of three arousal populations on daily levels of sleep and wake. *J Neurosci.* 27, 14041-14048.
51. Jones B.E. (2005) From waking to sleeping: neuronal and chemical substrates. *Trends Pharmacol. Sci.* 26, 578-586.
52. Szymusiak R., Alam N., and McGinty D. (2000) Discharge patterns of neurons in cholinergic regions of the basal forebrain during waking and sleep. *Behav. Brain Res.* 115, 171-182.
53. Gerashchenko D., Kohls M.D., Greco M., Waleh N.S., Salin-Pascual R., Kilduff T.S., Lappi D.A., and Shiromani P.J. (2001) Hypocretin-2-saporin lesions of the lateral hypothalamus produce narcoleptic-like sleep behavior in the rat. *J. Neurosci.* 21, 7273-7283.
54. Li Y., Gao X.B., Sakurai T., and van den Pol A.N. (2002) Hypocretin/Orexin excites hypocretin neurons via a local glutamate neuron-A potential mechanism for orchestrating the hypothalamic arousal system. *Neuron* 36, 1169-1181.
55. Hunsley M.S., Curtis W.R., and Palmiter R.D. (2006) Behavioral and sleep/wake characteristics of mice lacking norepinephrine and hypocretin. *Genes Brain Behav.* 5, 451-457.
56. Hunsley M.S. and Palmiter R.D. (2004) Altered sleep latency and arousal regulation in mice lacking norepinephrine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 78, 765-773.
57. Adamantidis A.R., Zhang F., Aravanis A.M., Deisseroth K., and de Lecea L. (2007) Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons. *Nature* 450, 420-424.



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Filogenia del sueño: de invertebrados a vertebrados

Fructuoso Ayala Guerrero, Graciela Mexicano

Ayala-Guerrero F, Mexicano G.

Filogenia del sueño: de invertebrados a vertebrados.

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 37-45.

RESUMEN

El sueño es un proceso fundamental para los animales, el cual puede ser modulado tanto por factores endógenos como exógenos. A pesar de la clara importancia del dormir y de la gran cantidad de investigaciones que se llevan a cabo, todavía no se conoce con precisión el papel fundamental de este fenómeno. Tradicionalmente, el estudio comparativo del sueño ha tomado como referencia la actividad cerebral de los mamíferos, lo que ha dado origen a serias controversias acerca de su existencia en vertebrados exotermos (reptiles, anfibios y peces) y con mayor razón en invertebrados. Sin embargo, el análisis conductual ha permitido mostrar la existencia de este proceso no sólo a lo largo de todos los vertebrados, sino también de los invertebrados. Además, la implementación de técnicas moleculares ha permitido poner en evidencia que el proceso de dormir ya se encuentra presente desde los invertebrados, lo que pudiera sugerir que se trata de un fenómeno universal inherente a los seres vivos.

Palabras clave: Filogenia del Sueño, mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces, invertebrados.

El proceso de dormir constituye una función extremadamente compleja que es esencial para los seres vivos. Este proceso ocupa una parte importante del periodo de vida de los organismos; el hombre, por ejemplo, se la pasa durmiendo durante aproximadamente la tercera parte de su vida.

A pesar de que numerosas teorías e hipótesis acerca de la función del sueño han sido descritas, tratando de explicar este fenómeno, actualmente se carece de una teoría integrativa convincente que describa el papel funcional de este fenómeno biológico aparentemente universal¹.

Cada uno de los animales estudiados, desde invertebrados hasta mamíferos, invierte una cantidad considerable de tiempo durmiendo. Además, el hecho de que los animales mueran cuando son privados del proceso de dormir indica que este proceso desempeña una función vital. Sin embargo, la precisa función de este proceso permanece aún desconocida.

INVERTEBRADOS

El estudio de sueño llevado a cabo en invertebrados por medio de técnicas electrofisiológicas ofrece serias dificultades. Sin embargo, recientes trabajos realizados en algunos

invertebrados tales como el nematodo *C. elegans*² (Fig. 1) así como en la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*)³, los cuales presentan estados CONDUCTUALES similares al sueño del humano y en otros invertebrados, prometen aportar claves a nivel molecular para comprender el papel que desempeña el sueño (Fig. 2).



Figura 1. Fotomicrografía de un ejemplar del Nematodo *Caenorhabditis elegans*.



Figura 2. Fotografía de un ejemplar de la mosca *Drosophila melanogaster*.

En este sentido, utilizando diferentes métodos para medir funciones cognoscitivas en *Drosophila*, se ha podido poner en evidencia la alteración de estas funciones, cuando son privadas de sueño, como sucede en el humano. Cuando a las moscas se les priva de sueño, necesitan más tiempo para aprender y además olvidan la información más rápidamente. Además, una privación prolongada de sueño origina una especie de incremento compensatorio. Las cucarachas presentan una conducta determinada durante su sueño conductual manifestada por inmovilidad, caída de las antenas y una disminución de la sensibilidad para responder a estímulos externos⁴. También se ha descrito la presencia de sueño en el acocil, que se caracteriza por pasividad e incremento en el umbral para responder; además, presenta cambios significativos en los patrones de

la actividad cerebral en comparación con los observados durante la vigilia⁵.

En los mamíferos en general, incluyendo al humano, se han descrito dos tipos diferentes de sueño^{6,7}: el primero conocido como sueño lento, llamado así porque el cerebro presenta ondas lentas de gran amplitud, mientras que el segundo, llamado sueño MOR, se caracteriza por presentar una actividad cerebral rápida y de baja amplitud, además de la presencia de movimientos oculares rápidos (MOR) que le da nombre a la fase (Fig. 3).

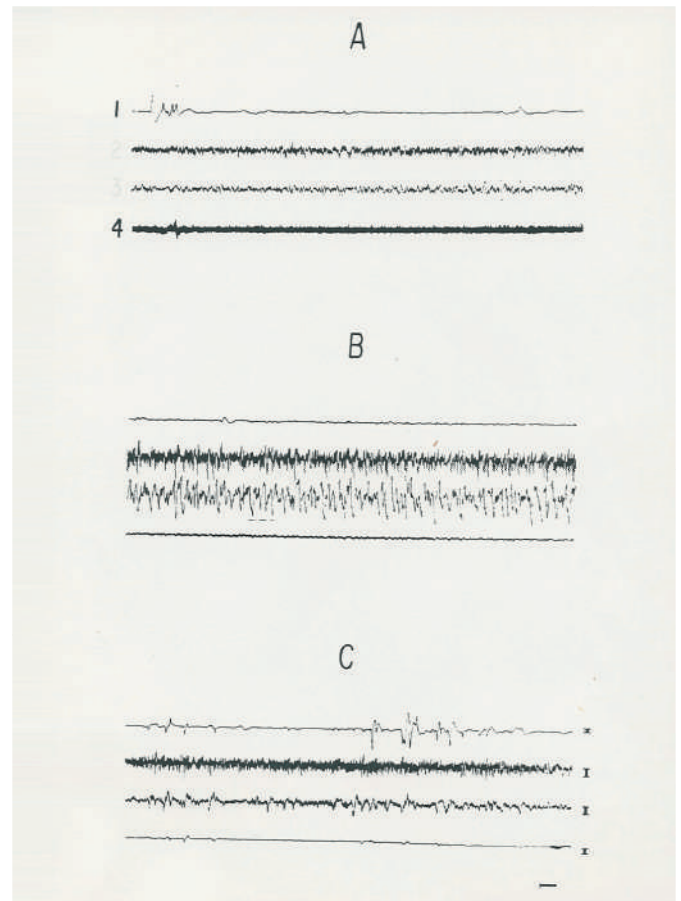


Figura 3. Estados de vigilancia de un mamífero.

A, Vigilia; B, Sueño lento; C, Sueño MOR. 1, EOG; 2 y 3, EEG; 4, EMG.

UTILIZACIÓN DEL MÉTODO COMPARATIVO PARA DESCUBRIR LA FUNCIÓN DEL SUEÑO

El análisis de las características del sueño presentes en diferentes grupos de vertebrados (Fig. 4) ha resultado ser un método importante para estudiar las funciones adaptativas potenciales del sueño. En cierta forma, la idea que se tiene

acerca de la evolución del sueño ha sido distorsionada por la consideración de que los mamíferos son evolutivamente más avanzados que el resto de los vertebrados, es decir, aves, reptiles, batracios y peces. Sin embargo, en algunos aspectos las aves han desarrollado innovaciones en la organización de la lámina cortical que no están presentes en los mamíferos⁸. Similarmente, los reptiles han desarrollado sistemas neurales muy complejos, especializados para la transducción de la información luminosa en impulsos nerviosos que regulan los ciclos actividad-reposo⁹.

REPTILES ACTUALES

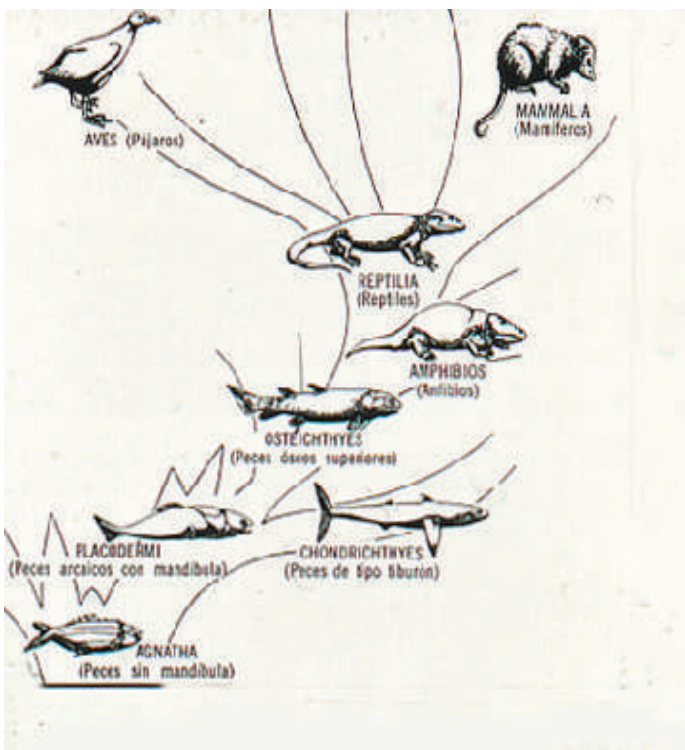


Figura 4. Evolución simplificada de los vertebrados según Romer.

MAMÍFEROS

Se ha establecido, sin lugar a dudas, que tanto los mamíferos placentarios como los marsupiales presentan las características electrofisiológicas y conductuales que permiten identificar la presencia de la fase de sueño lento y la de MOR⁶. Sin embargo, en los monotremas, los mamíferos más primitivos, la presencia de estas fases muestra ciertas peculiaridades, en las que resaltan algunas ambigüedades. Existe un acuerdo general que considera la existencia de sueño lento típico, sin embargo, la fase de sueño MOR

muestra algunas características del sueño lento tales como la presencia de ondas cerebrales de gran amplitud coincidiendo con una actividad neuronal del tronco cerebral y la presencia de sacudidas musculares que caracterizan al sueño MOR⁷. Sin embargo, una mezcla de las características del sueño lento y del MOR, también está presente en el humano recién nacido¹⁰.

Los mamíferos acuáticos presentan lo que se ha denominado como sueño lento unihemisférico, el cual consiste en el hecho de que mientras un hemisferio cerebral duerme, presenta ondas lentas de gran amplitud; y al mismo tiempo, el otro hemisferio permanece despierto mostrando ondas cerebrales rápidas de baja amplitud¹¹ (Fig. 5).

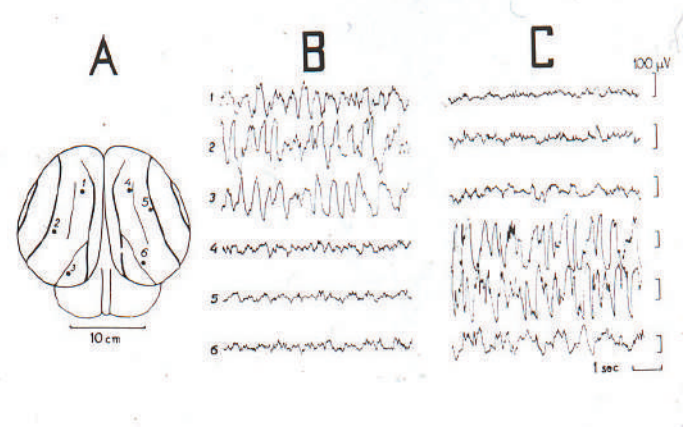


Figura 5. Sueño unihemisférico.

A) Esquema de un cerebro de Delfín; B) El hemisferio izquierdo está durmiendo, mientras el derecho permanece despierto; C) El hemisferio izquierdo permanece despierto, mientras el derecho duerme. (tomada de Mukhametov, 1984)

Debido a que el grupo de las aves, que comparten un origen filogenético común con mamíferos y reptiles, presenta las fases de sueño lento y MOR⁶, algunos autores tienden a concluir que la activación cerebral característica del sueño MOR, se desarrolló independientemente en las aves y en los mamíferos téridos (subclase de mamíferos que se caracterizan porque el embrión se alimenta a través de una placenta) como los marsupiales y placentarios. Por otra parte, ya que la fase de sueño lento está presente tanto en las aves como en los 3 grupos de mamíferos, pero no en los reptiles con los que comparten un origen filogenético común, se ha sugerido que esta actividad cerebral lenta de gran amplitud, que caracteriza esta fase de

sueño, se desarrolló independientemente en los ancestros de aves y mamíferos¹².

Ahora bien, la mayoría de los estudios relacionados con el sueño han sido llevados a cabo en los vertebrados endotérmicos (aves y mamíferos). Sin embargo, en años recientes, con la implementación de nuevas técnicas, se han desarrollado nuevos métodos dirigidos hacia el análisis de diferentes funciones cerebrales incluyendo al sueño, que han permitido avances significativos, no solamente a través de un análisis electrofisiológico, sino también con la incorporación de técnicas sofisticadas que permiten un abordaje a nivel molecular¹³ y de marcaje genético¹⁴. Dentro de este contexto, los reptiles representan un grupo de vertebrados que ocupan una posición estratégica en virtud de su relación ancestral que comparten con las aves y mamíferos. La presencia del proceso de dormir en los reptiles ha dado origen a numerosas y serias controversias¹⁵, ya que este proceso ha sido determinado casi exclusivamente considerando la actividad eléctrica cerebral de los mamíferos como un prototipo para los estudios comparativos del sueño. Sin embargo, la ausencia de signos electroencefalográficos que caracterizan al sueño lento o al MOR no implica la ausencia de esta función sino la carencia de los generadores neurofisiológicos apropiados que dan origen a tal actividad cerebral, como ha sido demostrado experimentalmente en el gato decorticado o bien en hallazgos clínicos provenientes de pacientes que han sufrido una lesión cortical amplia¹⁶. En contraste, con los datos obtenidos por medio de técnicas electrofisiológicas, el análisis conductual ha resultado ser un método adecuado para realizar el estudio comparativo del sueño en los vertebrados.

Con este tipo de análisis resaltan ciertas características conductuales presentes en todos los vertebrados que indican la presencia de sueño. Estas características incluyen: 1) adopción de una postura de reposo específica, 2) mantenimiento de una inmovilidad conductual, 3) incremento en el umbral para responder a estímulos cada vez mas intensos que refleja la profundidad del sueño y 4) reacción de despertar a estímulos de cierta intensidad. Esta característica permite diferenciar al sueño de otras conductas aparentemente similares tales como estado anestésico o de coma donde no hay este

tipo de respuesta¹⁷.

REPTILES: Eslabón entre ectodermos y endodermos

Cuando a los reptiles se les mantiene en un medio libre de estímulos, presentan una conducta similar a la adoptada por los vertebrados endotérmicos (aves y mamíferos) durante el sueño¹⁸ durante la cual, además de mantener inmovilidad por un tiempo relativamente largo, mantienen los ojos cerrados, exhiben máxima relajación muscular, así como disminución de la actividad respiratoria y cardíaca, y disminuye significativamente su capacidad de responder a los estímulos.

Dentro de este contexto, se ha reportado la existencia de sueño conductual en varias especies de reptiles que pertenecen al grupo de los quelonios^{19,20}, así como de cocodrilos²¹ y de iguanas y especies similares²².

En el grupo de las iguanas, por ejemplo, se ha descrito la presencia de dos fases de sueño: sueño pasivo y sueño activo en la especie *Ctenosaura pectinata*^{23, 24}, lo mismo que en *Ctenosaura similis*²⁵. Mientras, en Iguana existen algunas diferencias de opinión: por una parte, Flanigan (1973)²⁶ reporta la existencia de una sola fase de sueño, en tanto que Ayala-Guerrero y Mexicano²², han descrito dos fases similares a las exhibidas por las otras especies de iguanas. Esta última opinión es apoyada por los hallazgos de Liknowski *et al.* (1991)²⁷ los cuales muestran la existencia de factores genéticos que participan en la expresión de ciertas características del sueño, puesto que I. iguana está, desde el punto de vista filogenético, estrechamente relacionada con las otras dos especies de iguana.

Contrariamente a lo que sucede en vertebrados endotérmicos, la actividad cerebral mostrada por los reptiles durante el sueño conductual y la vigilia es diferente. Sin embargo, es posible distinguir 2 tipos de conducta durante el sueño dando origen a una separación en sueño pasivo y sueño activo. Estas conductas son similares a las presentadas por los vertebrados endotérmicos durante el sueño lento y sueño MOR respectivamente.

Las diferencias en las características de la actividad cerebral observadas entre vertebrados endotérmicos y reptiles pueden estar relacionadas con el nivel de desarrollo cerebral alcanzado por ambos grupos de vertebrados^{28,29}.

La presencia de ondas lentas de gran amplitud típicas del sueño lento de los mamíferos dependen de la integridad de la neocorteza y de la relación anatómico-funcional entre el tálamo y la neocorteza³⁰. La neocorteza y las conexiones tálamo-corticales están pobremente desarrolladas en los reptiles³¹. Por eso la ausencia de ondas lentas de gran amplitud durante el sueño pasivo de los reptiles podría estar relacionada con la ausencia de los generadores neurofisiológicos de esta actividad eléctrica cerebral y no con la ausencia del proceso de dormir. Esto es apoyado por evidencias experimentales obtenidas de estudios llevados a cabo en gatos decorticados, donde las ondas lentas de gran amplitud no se presentan durante el sueño conductual. Además, el análisis ontogenético del sueño en el cobayo muestra la ausencia de ondas lentas de gran amplitud mientras la corteza no alcance su completo desarrollo³².

Por otra parte, durante el sueño pasivo los reptiles presentan espigas electroencefalográficas que han sido consideradas como signos electrofisiológicos homólogos a las ondas lentas de gran amplitud que caracterizan a la fase de sueño lento de los mamíferos. Esto es apoyado por estudios llevados a cabo en gatos normales y decorticados, donde se han registrado espigas similares en el hipocampo ventral durante esta fase de sueño³³. La presencia de espigas durante el sueño conductual en los 3 órdenes de reptiles estudiados, es decir, Chelonia^{17,20,34}, crocodilia²¹ e iguanas²⁴, así como en aves y mamíferos, es un importante apoyo para la hipótesis que considera a las espigas como un precursor filogenético de las ondas lentas de gran amplitud que caracteriza al sueño lento de aves y mamíferos³³. Éstos, además de otras variables electrofisiológicas como el electromiograma, el electro-oculograma y el electrocardiograma, aportan información confiable de los niveles de vigilancia o la profundidad del sueño en los vertebrados. Asimismo, los reptiles y los mamíferos disminuyen su actividad motora cuando pasan de un estado de vigilia a otro de sueño o reposo³⁵. Los movimientos oculares, presentes durante la vigilia, desaparecen durante el sueño conductual y reaparecen en forma de ráfagas durante el sueño activo, paralelamente con otras manifestaciones motoras, como se observa en aves y mamíferos durante el sueño paradójico.

Igualmente se observa en los reptiles una disminución en el ritmo cardíaco al pasar de la vigilia al sueño pasivo, y se incrementa nuevamente durante el sueño activo como ha sido también descrito en los vertebrados endotérmicos³⁶.

Este análisis comparativo entre el sueño pasivo de los reptiles y el sueño lento de los mamíferos muestra una analogía entre ambos tipos de sueño. El sueño activo de los reptiles también presenta similitudes con el sueño paradójico de aves y mamíferos, ya que, en las 3 clases de vertebrados, esta fase de sueño se presenta después de largos periodos de sueño lento o pasivo. Además, durante la fase de sueño activo o paradójico, se presentan automatismos motores tanto en reptiles como en aves y mamíferos. Los reptiles presentan una fase paradójica de corta duración abarcando en promedio unos cuantos segundos, lo que contrasta con la de los mamíferos, donde la duración es del orden de los minutos⁶. Sin embargo, la otra clase de vertebrados endotérmicos (aves) también presenta fases paradójicas de sueño de muy corta duración⁶.

Aunque la actividad cerebral mostrada por los vertebrados exotermos durante sus periodos alternantes de actividad y reposo es diferente a la de los mamíferos, varios investigadores están de acuerdo en la existencia de sueño conductual. Sin embargo, la gran mayoría de ellos solamente considera la presencia de la fase de sueño pasivo, y pocos investigadores han descrito, además de la fase de sueño pasivo, la de sueño activo o paradójico.

Existen datos en la literatura que muestran la regulación homeostática del sueño³⁷; en este sentido, se observa que cuando se inhibe selectivamente la presencia de sueño MOR se presenta un incremento compensatorio o "efecto de rebote" durante el periodo de recuperación³⁸. El término de "rebote" de sueño MOR fue inicialmente propuesto por Dement (1960)³⁹ para describir el incremento de esta fase después de su inhibición experimental. Posteriormente, este término ha sido extrapolado para describir el incremento de sueño MOR por arriba de los valores considerados normales que se presentan después de las alteraciones del ciclo vigilia-sueño. Dentro de este contexto, se ha observado que la privación instrumental del sueño conductual en vertebrados exotermos, incluyendo reptiles, batracios y peces,⁴⁰ es seguido por un incremento

compensatorio como sucede en los mamíferos. La mayoría de los investigadores del sueño han dirigido su atención hacia el estudio de los mamíferos, donde toman como referencia la presencia de una determinada actividad eléctrica cerebral. Sin embargo, los peces, anfibios y reptiles carecen de las estructuras cerebrales complejas que dan origen a este tipo de actividad. Además, los peces carecen de párpados, por lo que no se puede tomar en consideración el prolongado cierre ocular como criterio de sueño conductual. Afortunadamente, los otros criterios conductuales descritos anteriormente se pueden aplicar en todos los tipos de vertebrados incluyendo los peces.

ANFIBIOS

Los anfibios ocupan un lugar especial en la evolución de los vertebrados, ya que representan una transición entre los vertebrados que viven en un medio acuático y los terrestres. Estos animales sufren una metamorfosis durante su desarrollo, ya que durante la primera etapa de su vida son acuáticos, y se transforman en terrestres durante su adolescencia.

Las especies de anfibios que viven actualmente pertenecen a tres ordenes diferentes: Gymnophiona o Apoda (cecílicos, carecen de extremidades externas), Caudata (salamandras, poseen extremidades externas) y Anura (sapos y ranas, con extremidades externas). A excepción de las salamandras, donde se ha descrito un ciclo de actividad-reposo de 4 horas de duración,⁴¹ la mayoría de los estudios de sueño se han realizado en sapos y ranas. Así, por ejemplo, se han descrito 3 estados de vigilancia en rana catesbiana: vigilia activa, vigilia pasiva y reposo⁴². En estudios llevados a cabo en ejemplares de la rana arborícola del género *Hyla*, se puso en evidencia sin lugar a dudas la existencia de sueño conductual, durante el cual aumenta el umbral para responder a los estímulos⁴³. En rana temporaria se observó un tipo de reposo calificado como sueño primario, el cual variaba su duración de acuerdo con la época del año, siendo mayor en invierno y menor en primavera y verano. En el sapo del género *Bufo* se observó que, durante el sueño conductual, el umbral de despertar se incrementaba de manera significativa, ya que se requerían de estímulos muy intensos para despertarlo, de otra manera no se presentaba el despertar espontáneo. El sapo cabeza

de toro presenta automatismos motores durante el sueño conductual, los cuales son considerados como elementos primitivos y aislados de los componentes que integran el sueño paradójico en vertebrados más evolucionados⁴⁴. Este mismo tipo de automatismos motores han sido descritos en rana temporaria por diversos autores⁴⁵.

PECES

De acuerdo con criterios conductuales, Shapiro y cols. (1976)⁴⁶ reportaron que tilapia mozambica (*Oreochromis mossambicus*) estaba activa durante el día y reposaba en las noches en el fondo del tanque; en estas condiciones disminuía la actividad respiratoria y se incrementaba el umbral de despertar. Similarmente, observaron ejemplares del pez cabeza de toro café *Ameiurus nebulosus* en una postura típica de sueño, con su cola aplanada apoyada en el fondo, con sus aletas extendidas y su cuerpo ligeramente inclinado hacia un lado, con un ángulo de 10-30° en relación con el eje vertical. En estas condiciones, la actividad cardíaca y respiratoria eran mucho más lentas; además, eran menos sensibles a estímulos sonoros y táctiles. De manera similar, otras especies de peces tales como *Thalassoma bifasciatum*, *Irideo bivittata*⁴⁰, *Tautogolabrus adspersus* y aun tiburones pueden ser recogidos con la mano en la noche e inclusive cargados hasta la superficie sin provocar respuestas.

Usando visores para detectar rayos infrarrojos, es posible analizar la conducta de peces mientras permanecen en su reposo nocturno. Por medio de esta tecnología, se han hecho estudios en ejemplares de la familia Cichlidae, ya que son ciegos para los rayos infrarrojos. Esto ha facilitado observar que estos ejemplares permanecen en reposo durante la noche, manteniéndose inmóviles en el fondo, con los ojos relajados hacia abajo y presentando un umbral para reaccionar elevado. Entre las especies estudiadas se encuentran *Heros severus*, *Heterotilapia multispinosa* y *Archocentrus nigrofasciatus*⁴⁷.

Otro criterio utilizado para calificar la presencia de sueño es la existencia de un periodo de inactividad que alterna con periodos de actividad en el transcurso del espacio de tiempo de 24 horas. La literatura es abundante en información obtenida de estudios de los patrones de actividad exhibidos en el transcurso de las 24 horas^{48,49}.

Como es de esperarse, la mayoría de los peces se caracterizan por presentar su actividad concentrada principalmente en el día o en la noche, alternando con periodos de inactividad. Un número razonable de especies son principalmente crepusculares, especializadas sobre todo para condiciones ligeramente iluminadas que se presentan entre el atardecer y el amanecer. Las especies crepusculares son frecuentemente depredadoras, y obtienen ventajas del intenso tráfico que se presenta al atardecer, cuando los peces diurnos se apresuran para llegar a sus lugares de reposo mientras que los peces nocturnos abandonan estos lugares. Un fenómeno inverso se observa al amanecer.

CONCLUSIONES

Los vertebrados, de peces a mamíferos, presentan 2 fases de sueño: sueño pasivo y activo.

El sueño pasivo va a desarrollarse como sueño lento a medida que evoluciona el cerebro, mientras que el sueño activo va dar origen al sueño MOR.

Los invertebrados presentan estados conductuales semejantes al sueño de los vertebrados. Además, ofrecen la oportunidad para un enfoque filogenético del sueño a nivel molecular.

BIBLIOGRAFIA

1. Popoca-Gutiérrez J, García-Gomar ML, Osorio-Rodríguez O. Hipótesis de las funciones del sueño. En: Ayala-Guerrero F, Mexicano G, Guevara U, editores. Trastornos del sueño. Corinter: México; 2007. p. 263-80.
2. Raizen DM, y col. Lethargus is a *Caenorhabditis elegans* sleep-like state. *Nature* 2008; 451: 569-72.
3. Huber R y col. Sleep homeostasis in *Drosophila melanogaster*. *Sleep* 2005; 27: 628-39.
4. Tobler I, Neuner-Jehle M. 24-h variation of vigilance in the cockroach *Blaberus giganteus*. *J Sleep Res* 1992; 1: 231-39.
5. Ramón F, Hernández-Falcón J, Nguyen B, Bullock TH. Slow wave sleep in crayfish. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11857-61.
6. Ayala-Guerrero, F. y Mexicano, G. Filogenese Do Sono: Avancos Recentes. En: Sono. Estudo Abrangente. Reimao R, editor. Livraria Atheneu Editora, Sao Paulo Brasil; 1996, p. 99-112.
7. Siegel JM, y col. Monotremes and the evolution of rapid eye movement sleep. *Phil Trans R Soc Lond B* 1998; 353: 1147-57.
8. Medina L, Reiner A. Do birds possess homologues of mammalian primary, visual, somatosensory and motor cortices? *Trends Neurosci* 2000; 2: 1-12.
9. Ebner FF. The forebrain of reptiles and mammals. En: Masterton RB, y col., editores. *Evolution of brain and behavior in vertebrates*. New York: John Wiley and sons; 1976. p. 147-67.
10. Emde RN, Metcalf DR. An electroencephalographic study of behavioral rapid eye movement states in the human new born. *J Nerv Ment Dis* 1970; 150: 376-86.
11. Mukhametov LM. Sleep in marine mammals. *Exp Brain Res* 1984; 8: 227-36.
12. Garau C, Aparicio S, Rial RV, Esteban S. La evolución del sueño: las aves en la encrucijada entre mamíferos y reptiles. *Rev Neurol* 2005; 40: 423-30.
13. Yuan Q, Joiner WJ, Sehgal A. A sleep-promoting role for the *Drosophila* serotonin receptor 1A. *Curr Biol* 2006; 16: 1051-62.
14. Graves, LA y col. Genetic evidence for a role of CREB in sustained cortical arousal. *J Neurophysiol* 2003; 90: 1152-59.
15. Walker JM, Berger RJ, Scott TD. Absence of electrophysiological signs of sleep in the tortoise *Testudo denticulata*. *Sleep Res* 1973; 2: 88.
16. Jouvet M. Recherches sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. *Arch Ital Biol* 1962; 100: 125-206.
17. Flanigan WF, Knight CP, Hartse KM, Rechtschaffen A. Sleep and wakefulness in chelonian reptiles. 1. The box turtle, *Terrapene carolina*. *Arch Ital Biol* 1974; 112: 227-52.
18. Frank MG. Phylogeny and evolution of rapid eye movement (REM) sleep. En: Mallick BN, Inoue S, editors. *Rapid Eye Movement Sleep*. New Delhi, India: Narosa Publishing House; 1999. p. 17-38.

19. Karmanova G, Churnosov EV. Electrophysiological investigation of natural sleep and waking in turtles and hens. *J Evol Biochem Physiol* 1972; 8: 47-53.
20. Ayala-Guerrero F. Sleep in the tortoise *Kinosternon* sp. *Experientia* 1987; 43: 296-98.
21. Flanigan WF, Wilcox RH, Rechtschaffen A. The EEG and behavioral continuum of the crocodilian, *Caiman sclerops*. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1973; 34:521-38.
22. Ayala-Guerrero F, Mexicano G. Topographical distribution of the locus coeruleus and raphe nuclei in the lizard *Ctenosaura pectinata*: functional implications on sleep. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2008; 149: 137-41.
23. Tauber ES, Rojas-Ramírez JA, Hernández-Peón R. Electrophysiological and behavioral correlates of wakefulness and sleep in the lizard *Ctenosaura pectinata*. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1968; 24: 424-33.
24. Ayala-Guerrero F, Huitrón-Reséndiz S. Sleep patterns in the lizard *Ctenosaura pectinata*. *Physiol Behav* 1991; 49: 1305-07
25. Huitrón-Reséndiz S, Mexicano G, Ayala-Guerrero F. Effect of atropine sulphate on sleep of the guanid lizard *Ctenosaura similis*. *Proc West Pharmacol Soc* 1992; 35: 157-60.
26. Flanigan WF. Sleep and wakefulness in iguanid lizards, *Ctenosaura pectinata* and *Iguana iguana*. *Brain Behav Evol* 1973; 8: 401-36.
27. Likowski P, Kerkhofs M, Hauspie R, Mendlewicz J. A genetic study of sleep in twins living apart. *Sleep Res* 1991; 20A: 41.
28. Butler AB. Cytoarchitectonic and connectional organization of the lacertilian telencephalon with comments on vertebrates forebrain evolution. En: Ebesson SOE, editor. *Comparative Neurology of the Telencephalon*. New York: Plenum Press; 1980. p. 297-25
29. Finlay BL, Innocenti G, Scheich H. The neocortex, Ontogeny and phylogeny. New York: Plenum Press. 1991.
30. Lindsley B, Schreiner LH, Knowles WB, Magoun HW. Behavioral and EEG changes following chronic brain stem lesions in the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1950; 2: 483-98.
31. Lohman AH, Smeets WJ. The dorsal ventricular ridge and cortex of reptiles in historical and phylogenetic perspective. En: Finlay BL, Innocenti G, Scheich H, editors. *The Neocortex: Ontogeny and phylogeny*. New York: Plenum Press. 1991. p. 59-74.
32. Astic L, Sastre JP, Brandon AM. Etude polygraphique des états de vigilance chez le foetus du cobaye. *Physiol Behav* 1973; 11: 647-54.
33. Hartse KM, Rechtschaffen A. The effect of amphetamine, nembutal, alpha-methyl-tyrosine, and parachlorophenylalanine on sleep-related spike activity of the tortoise, *Geochelone carbonaria*, and on the cat ventral hippocampus spike. *Brain Behav Evol* 1982; 21: 199-22.
34. Vasilescu E. Sleep and wakefulness in the tortoise (*Emys orbicularis*). *Rev Roum Biol Ser Zool* 1970; 15: 177-79.
35. Ruckebusch Y, Barbey P, Guillemont P. Les états de sommeil chez le cheval (*Equus caballus*). *C R Séances Soc Biol (Paris)* 1970; 164: 658-66.
36. Allison T, Van Twyver H, Goff WR. Electrophysiological studies of the echidna, *Tachyglossus aculeatus*. 1. Waking and sleeping. *Arch Ital Biol* 1972; 110: 145-84.
37. Borbely A. Effects of light on sleep and activity rhythms. *Prog Neurobiol* 1978; 10: 1-31.
38. Benington H, Heller C. Implications of sleep deprivation experiments for our understanding of sleep homeostasis. *Sleep* 1999; 22: 1033-37.
39. Dement WC. The effect of dream deprivation. *Science* 1960; 131: 1705-7.
40. Tauber ES, Weitzman ED, Korey SR. Eye movements during behavioral inactivity in certain Bermuda reef fish. *Behav Biol* 1969; 3:131-35.
41. Lucas E, Serman MB, McGinty DJ. The salamander EEG: A model of primitive sleep and wakefulness. *Psychophysiology* 1969; 6: 230.
42. Hobson AJ. Electrographic correlates of behavior in the frog with special reference to sleep.

- Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1967; 22:113-21.
43. Hobson AJ, Goin OB, Goin CJ. Electrographic correlates of behavior en tree frogs. Nature (London). 1968; 220: 386-7.
44. Voronov IB, y col. The effect of arecoline on the structure of rest and active wakefulness in the brown bull-head toad. Zh Evol Biokhim Fiziol 1977; 13: 525-8.
45. Popova DI, Churnosov EV. Diurnal Cycles of waking and rest in the frog *Rana temporaria*. J Evol Biochem Physiol 1976; 12: 186-8.
46. Shappiro CM, y Helpburn HR. Sleep in the schooling fish, *Tilapia mossambica*. Physiol Behav 1976; 16: 613-15.
47. Mussen TD, Peeke HVS. Nocturnal feeding in the marine threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): modulation by chemical stimulation. Behaviour 2001; 138: 857-71.
48. Reebbs SG. Plasticity of diel and circadian activity rhythms in fishes. Fish Biology and fisheries. 2002; 12: 349-71.
49. Zhadanova IV, Reebbs SG. Circadian Rhythms. En: Sloman KA, Wilson RW, Balshine S, editores. Behaviour and Physiology of fish. San Diego: Elsevier; 2006. p. 197-38.



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Humoral Regulation of Sleep; Implications for Sleep as an Emergent Use-Dependent Local Process

James M. Krueger

Sleep and Performance Research Center

Program in Neuroscience

Washington State University

Krueger JM.

Humoral Regulation of Sleep; Implications for Sleep as an Emergent Use-Dependent Local Process

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 46-52.

ABSTRACT

Sleep is regulated in part by substances that are produced in response to wakefulness cellular activity. These substances in turn induce state changes in neural networks. Several of these sleep regulatory substances are well-characterized and include tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1, adenosine, prostaglandin D₂, and growth hormone releasing hormone. This review is focused on TNF-sleep mechanisms. ATP co-released during neurotransmission induces the release of TNF from glia via purine P2 receptors. TNF acts directly on neurons to alter membrane potentials and gene expression of adenosine and glutamate receptors. Changes in the number of these receptors on neurons alter the sensitivities of the neurons. Thus the input-output relationships of the networks within which the neurons are located are changed. We posit that these events lead to state oscillations and these changes are thus use-dependent and local. The concept that cortical assemblies such as cortical columns oscillate between states has broad implications for sleep regulation, pathologies and function.

Sleep deprivation is associated with enhanced sleepiness, sleep, and fatigue, increased sensitivity to pain and to kindling stimuli, reduced memory and cognitive function, and performance impairments. Chronic sleep loss is also associated with pathologies such as metabolic syndrome, chronic inflammation and cardiovascular disease. Multiple disease states are characterized by increases in sleep, sleepiness and fatigue including; sleep apnea, insomnia, excessive daytime sleepiness, AIDS, myocardial infarction, pre-eclampsia, post-dialysis fatigue, alcoholism, chronic fatigue syndrome, post-viral fatigue syndrome, rheumatoid arthritis and influenza viral infection. These disease states and sleep loss are all associated with enhanced circulating levels of cytokines such as tumor necrosis factor alpha (TNF) and interleukin-1 (IL1)¹. There is also animal literature implicating these cytokines in physiological sleep regulation and in the sleep responses occurring after

sleep loss and in disease states². Further, injection of IL1 or TNF induces all of the symptoms associated with sleep loss. The current review emphasizes some of the animal data implicating brain TNF in sleep regulation. Those data will then be used to develop the idea that sleep is a fundamental process of neuronal assemblies (e.g. cortical columns) that is use-dependent. The review will conclude with a brief statement as to what this means for sleep function.

Humoral regulation of sleep; emphasis on TNF

We have known for about 100 years that the transfer of cerebrospinal fluid from an animal deprived of sleep to a normal rested animal enhances sleep in the latter². This finding has been replicated many times and has led to the discovery of several sleep regulatory substances (SRSS) such as TNF, IL1 and others (see Table 1). Many investigators³⁻⁶ have proposed criteria that the SRS should meet, e.g. it should enhance sleep, if inhibited reduce spontaneous sleep, vary in brain with sleep propensity, act on sleep regulatory networks and vary with pathology-associated changes in sleep/sleepiness. These criteria are necessary because it is not possible to isolate sleep as an independent variable. New approaches such as genome-wide searches for transcripts that change with sleep or sleep loss have been successful in identifying new candidate SRSS although these new candidates have yet to be validated via the criteria mentioned. The changes observed for some of these substances are likely a consequence of sleep/sleep loss rather than a reflection of direct involvement in sleep regulation. Regardless, it is now recognized that the humoral regulation of sleep is complex, involving many substances (Table 1) that interact in pathways involving multiple cell types within the brain over time courses ranging from days and hours to milliseconds (Figure 1). What follows is focused only on TNF; it is recognized that similar data exist for the other substances in Table 1².

Central or systemic injection of TNF enhances duration of NREMS. For example, intraperitoneal injection of TNF into mice results in about 90 minutes of extra non-rapid eye movement sleep (NREMS) during the first 12 hours post-injection without greatly affecting duration of REMS. In contrast, inhibition of TNF using either antibodies or the soluble TNF receptor reduces spontaneous NREMS

and attenuates the NREMS rebound occurring after sleep deprivation and the enhanced NREMS accompanying acute mild increases in ambient temperatures⁷. Mutant mice lacking the TNF 55 kD receptor or those lacking both the 55 kD and the 75 kD receptors sleep less than control mice⁸.

Table 1. State regulatory substances meeting all the criteria for such substances outlined in references 3-6.

NREMS substances	REMS substances	Wakefulness substances
IL1 ¹	VIP	hypocretin
TNF	NO	CRH
GHRH	PRL	
NGF		
Adenosine		
Prostaglandin D ₂		

¹ Abbreviations: see Fig 1 legend and VIP, vasoactive intestinal polypeptide; PRL, prolactin

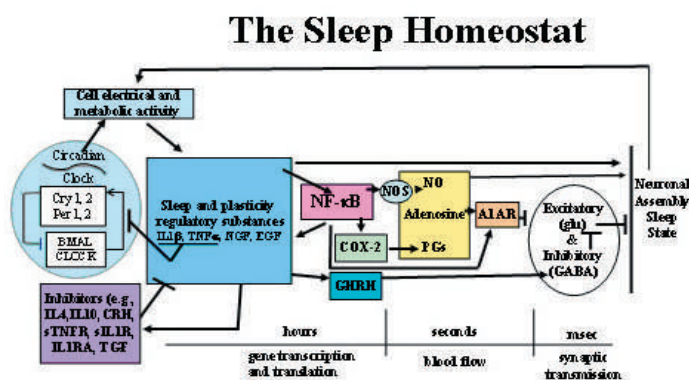


Figure 1. Cytokines such as IL1, TNF, nerve growth factor (NGF), epidermal growth factor (EGF), interleukin 4 (IL4), interleukin 10 (IL10), and associated soluble and membrane-bound receptors all form part of the sleep biochemical regulatory network. Cell activity affects levels of these substances. Within brain for example, ATP, co-released during neurotransmission, induces the release of the gliotransmitters IL1 and TNF from glia. These substances induce their own production and interact with multiple other substances via nuclear factor kappa B (NFkB) activation. These effects are associated with gene transcription and translation and take several hours. Down-stream events include well-known metabolic substances and regulators of the microcirculation such as NO, adenosine and prostaglandins. Neurotransmission, acting on an even faster time scale, is altered by these substances via actions on the production of receptors that alter postsynaptic neuron sensitivity such as AMPA and adenosine A1 receptors (A1AR). State oscillations within local networks occur as a result of this ultra-complex biochemical regulatory scheme (1,2). Abbreviations: NO, nitric oxide; PGs, prostaglandins; COX, cyclooxygenase; glu, glutamic acid; GABA, gamma amino butyric acid; CRH, corticotrophin releasing hormone; sTNFR, soluble TNF receptor; sIL1R, soluble IL1 receptor; IL1RA, IL1 receptor antagonist; TGF, transforming growth factor beta; cry, cryptochrome; per, period; GHRH, growth hormone releasing hormone.

TNF-enhanced NREMS is most often accompanied by enhanced EEG delta power; this measure is indicative of sleep intensity and is used to model the S-process in the two process model of sleep regulation³. If TNF is injected into the pre-optic area (POA) of the anterior hypothalamus, a sleep regulatory circuit, it also enhances duration of NREMS and EEG delta power⁹. In contrast, if the TNF soluble receptor, an inhibitor of TNF, is injected into the POA NREMS duration is reduced. TNF can also enhance EEG delta power within local cortical circuits. Thus, unilateral injection of TNF onto the surface of the cortex results in ipsilateral enhancement of EEG delta power during NREMS but not during REMS or W. Conversely, the TNF soluble receptor unilaterally inhibits sleep loss-enhanced EEG delta power after cortical injections¹⁰. Similarly, if a TNF si RNA, a substance that decreases TNF mRNA stability, is unilaterally injected on to the cortex, it reduces TNF-immuno-reactivity and EEG delta power unilaterally only during NREMS¹¹.

TNF mRNA levels vary with sleep propensity; daylight levels are about 2 fold higher than nighttime levels. Similarly, TNF protein in hypothalamus and cortex is about 10 fold higher at the beginning of daylight hours compared to nighttime levels. TNF mRNA levels also increase in brain during sleep deprivation in rats¹. In humans, plasma levels of TNF in normal healthy individuals co-vary with EEG delta power. As already mentioned, in a variety of pathologies that manifest in sleepiness or excess sleep, TNF plasma levels are enhanced. For instance, after influenza viral challenge in mice, hypothalamic TNF levels are enhanced at the time NREMS is also enhanced¹². Similarly, giving humans endotoxin, a Gram-negative bacterial cell wall product, enhances TNF plasma levels and sleep¹³. Collectively the data discussed in this section clearly implicate TNF in physiological sleep regulation and in the sleep responses to sleep loss and pathological challenges.

Activity-dependent induction of TNF; a mechanism for how the brain keep track of past sleep-wake history

Neurotransmission is characterized by the co-release of ATP with neurotransmitters¹⁴. This extracellular ATP signals via purine receptors P2X and P2Y to release TNF, IL1 and brain-derived neurotrophic factor from glia¹⁵⁻¹⁷. Some of that extracellular ATP also rapidly degrades into adenosine and

it in turn acts via P1 receptors. This is posited to be one of the rapid mechanisms involved in sleep induction (Figure 1). The ATP-released TNF also acts rapidly on cells to alter membrane potentials and these changes are also likely involved in sleep regulation¹⁸. Perhaps more important to sleep regulation are the long term (hours; Figure 1) actions of TNF. Thus TNF activates nuclear factor kappa B (NFkB), an enhancer element involved in the transcription of multiple substances involved in sleep regulation^{19,20}. NFkB enhances transcription of the adenosine A1 receptor and the glu-R1 component of the glutamate AMPA receptor. Expression of these receptors alters the sensitivity of the neuron to adenosine, a hyperpolarizing inhibitory substance, and glutamate, a depolarizing excitatory substance. As a consequence, depending upon the relative number of each of these receptors, the sensitivity of the neuron to these ligands is altered. Such changes alter network input-output processes and are thought to be a key component in events such as memory formation and state changes (see below). This process is called scaling, up-scaling if there is a relative increase in the AMPA receptors and down-scaling if there is a relative increase in the adenosine A1 receptors (Figure 2). There is also direct evidence that TNF is involved in scaling²¹.

If neurotransmission-associated ATP release is involved in a long-term mechanism for keeping track of past brain activity, then ATP agonists or antagonists should alter sleep. To our knowledge, such substances have not been characterized for their actions on sleep. Preliminary data from our laboratory suggest that intracerebroventricular administration of the ATP agonist, BZATP enhances NREMS while the ATP antagonist, OXATP, inhibits NREMS (De *et al*, unpublished). Further, other preliminary data indicate that P2 receptor mRNAs (both X7 and Y1) have a diurnal rhythm in brain and are altered by sleep loss, IL1 and TNF injection, and changes in ambient temperature (Taishi *et al*, unpublished). If such data are confirmed and extended, they will suggest that the mechanism by which the brain keeps long-term track of prior activity (states) involves neurotransmission-released ATP that in turn releases brain cytokines and their subsequent actions on receptor expression and consequent cell sensitivity to excitatory and inhibitory signals (Table 2). This also strongly suggests, because such a mechanism

is a local event involving autocrine and paracrine signaling within the neuronal assembly where the neurotransmission took place, that sleep is initiated locally and is, thus, fundamentally a local process^{22,23}.

There is also evidence suggesting that TNF immunoreactivity in neurons is dependent upon prior activity within the neurons. Thus within somatosensory cortical columns, if rat whiskers are repeatedly stimulated, the number of TNF immunoreactive pyramidal cells is enhanced within the column receiving afferent input from the stimulated whisker but not in adjacent columns²⁴. Whether this TNF is produced within the neurons or is that TNF released from glia by ATP remains unknown. Nevertheless, the results clearly demonstrate the use-dependency of a SRS. In the next section, the ability of TNF to promote a local sleep-like state within cortical columns is described.

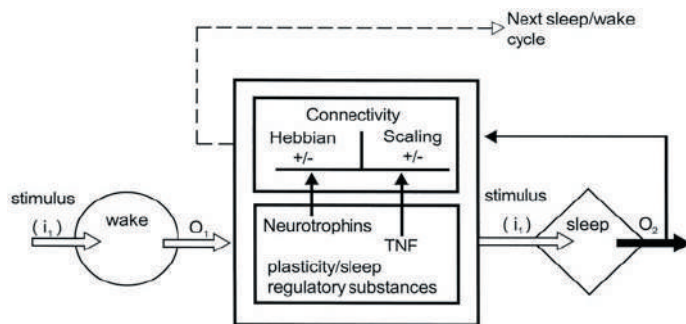


Figure 2. The cortical column as the basic unit of brain circuitry regulating sleep. A cortical column in the wake state exhibits a characteristic input-output relationship reflecting stimulus processing (left). With continued use, the metabolic condition of the cortical column changes, leading to enhanced production of sleep regulatory substances (SRSs) such as neurotrophins and tumor necrosis factor (TNF) within the column (center). The SRSs in turn alter the input-output relationship of the cortical column, modifying its stimulus response and rendering it effectively asleep (right). The use-dependent SRSs also sculpt neuronal and glial connectivity (center) by inducing synaptic plasticity (using Hebbian and scaling mechanisms), and this provides a possible function for the sleep state. In this conceptualization, sleep function is closely linked to local, use-dependent metabolism, and thus inseparable from sleep regulation. This paradigm provides a coherent physiological basis for sleep across species ranging from humans and other mammals to fruit flies and jelly fish.

Table 2. Mechanistic Hypothesis for Local Use-Dependent Sleep

Step 1: Metabolism and electrical activity link sleep regulatory substance (SRS) release and synthesis via ATP (sleep and metabolism are connected).
Step 2: SRS production is thus activity-dependent (sleep is homeostatically driven).
Step 3: SRSs act locally to alter receptive, hence electrical, properties of nearby neurons and thus alter input-output relationships of the network within which they are found (sleep is targeted to previously active networks).
Step 4: The altered input-output network relationships reflect a functional state change (sleep is local).

Step 5: Neuronal assembly sleep-like states synchronize with each other leading to organism state changes (organism sleep is a network emergent property)(see Roy et al, submitted, for a mathematical model).

Step 6: Sleep regulatory circuits coordinate the individual network (e.g. cortical columns) functional states into organism sleep architecture (sleep is adapted to the organism niche).

Step 7: SRSs act on multiple levels of the neural axis to promote sleep (sleep mechanisms are ubiquitous and evolutionarily ancient).

What sleeps? Sleep as a fundamental process of neuronal assemblies

A new paradigm for how the brain is organized to produce sleep posits that sleep regulation is fundamentally a local and use-dependent process^{22,23,25}. This hypothesis is substantially different from the prevailing view that sleep and wake states are whole-brain, global phenomena imposed upon the brain by specialized sleep/wake regulatory circuits. The paradigm shift has considerable consequences for our understanding of sleep regulation, sleep pathologies and, ultimately, sleep function.

Although the involvement of specialized brain areas in sleep/wake regulation is well documented, there is no evidence that these specific networks are required or essential for the occurrence of sleep. Thus, for millions of stroke patients and thousands of animal brain-lesion studies, there is not a single report of a post-lesion survivor who failed to sleep. This suggests that no specific portion of brain is critically involved in the genesis of sleep *per se*. It also suggests that sleep is a fundamental property of any surviving group of neurons and that it is self-organizing.

It seems likely that brain tissue can express sleep locally, and that this may occur spontaneously, without top-down control^{22,26}. Isolated cortical islands separated from thalamic input yet retaining their circulation display episodic slow waves in the EEG²⁷. In whole brain EEG delta power is recognized as a signature property of NREMS. Further, as mentioned above, when the SRSS, TNF¹⁰, or IL1²⁸ or GHRH²⁹, are applied unilaterally to the cortex *in vivo*, they intensify EEG delta power during NREMS but not during REMS or W. This enhanced EEG delta power occurs only in the region where these SRSS are applied, not in the whole brain. These data strongly suggest that at least one sleep phenotype, EEG delta power, is a local property of brain tissue. In addition, some species such as birds and whales exhibit uni-hemispheric sleep; thereby directly demonstrating that sleep is a property of something less than the whole brain³⁰. Clinical evidence also suggests that some patients can be awake and asleep simultaneously³¹.

Evidence from the developmental and memory literatures suggests that local sleep is use-dependent. Thus a plethora of experimental interventions ranging from whisker stimulation in rats to unilateral somatosensory stimulation, arm immobilization, adroit learning paradigms in humans ¹, and selective sensory deprivation of neonates ^{32,33} indicate that localized changes in sleep EEG delta power or blood flow ³⁴ are enhanced if during prior waking the areas were disproportionately activated relative to other brain areas. Such findings support the idea that sleep is not only local in nature, but also that its expression is related to prior brain activity—i.e., that it is use-dependent.

Sleep can be independently expressed in units of brain as small as cortical columns. This may be the minimal component in brain capable of sleep ³⁵. Cortical columns are densely interconnected assemblies of neurons thought to be the basic unit of information processing. In these rat experiments, individual cortical columns (whisker barrels) exhibit responses called evoked response potentials that are a measure of input/output relationships. The evoked response potentials are greater during sleep than during wakefulness. Individual columns can show the characteristic responses during sleep while neighboring columns exhibit wake-like responses. Vice versa, individual cortical columns can display wake-like states while neighboring columns show sleep-like responses when the rat is functionally and behaviorally asleep. These data suggest a degree of cortical column local state autonomy although local column state usually corresponded with whole animal state. The local sleep state occurs more frequently when the cortical column at hand is stimulated more intensively thereby exhibiting a use-dependency of state. These results point to cortical columns as the basic unit of brain circuitry involved in sleep and sleep regulation. Finally, if TNF is applied locally to the cortex it enhances the amplitudes of evoked response potentials suggesting that it induces the local sleep-like states in cortical columns ³⁶.

Cortical column state has an impact on overt behavior in rats ³⁷. In an experimental learning paradigm dependent upon sensory stimulation of a single whisker, when the corresponding whisker barrel was in the wake-like state, correct behavioral responses to whisker twitching were elicited. However, when the whisker barrel was in

the sleep-like state, the rat made errors. In the prevailing top-down paradigm of sleep regulation, intentional action from the specialized sleep/wake regulatory brain circuits is required to initiate and terminate whole-organism sleep, raising unresolved questions as to how that purposeful action might itself be initiated. The new paradigm of local, use-dependent sleep regulation avoids such infinite regresses. It posits instead that local sleep is a direct consequence of prior local use and that whole-organism sleep is essentially a bottom-up, self-organizing, emergent property of the collective states of cortical columns throughout the brain ²⁶. In our theory, a role remains for specialized brain nuclei and pathways involved in whole-organism sleep regulation, e.g. coordination of cortical columns to synchronize into single whole-brain vigilance states and coordination of overall brain states with other physiological systems in the body including niche-adapted circadian rhythms. However, sleep initiation resides in the individual cortical columns and other neural assemblies across the brain.

Implications for sleep function

The sleep regulatory mechanism presented results in the stabilization of cell sensitivity by changing receptor populations for inhibitory (adenosine) and excitatory (glutamate) molecules. This action occurs as a consequence of neuronal activity and is thus localized to the sites where activity-induced changes in synaptic efficacy and connectivity are occurring. Thus, SRSS, altered by activity, in turn alter expression of the receptors involved in plasticity. A comprehensive understanding of the molecular and genetic mechanisms of sleep remains incomplete. Nevertheless, our view of sleep mechanisms clearly link sleep and neural connectivity.

Our proposed sleep mechanism also provides insight into unconsciousness. We assume that within neuronal assemblies input during waking induces environmentally adaptive outputs. With prolonged activation of networks within the assemblies (excessive input) the mechanisms shown in Figures 1 and 2 and Table 2 would be activated and the consequent SRS release would induce a new output in response to the same input. The new output would likely be irrelevant to the environmentally-driven input. It would be maladaptive if allowed to manifest in cognitive or motor

real-time events because behavior would not be coordinated in real-time to environmental inputs. This creates an adaptive need to prevent the animal from behaving at such times. The local sleep mechanisms are as a consequence not only inseparable from the plasticity functions of sleep but they also provide the necessity for unconsciousness.

Acknowledgements

This work was supported by the Keck Foundation and NS 25378, NS 31453 and HD 36520

REFERENCES

1. Krueger JM, Rector DM, Churchill L. Sleep and cytokines. *Sleep Med Clinics*. 2007;2: 161-169.
2. Obál F Jr, Krueger JM. Biochemical regulation of sleep. *Frontiers Biosci* 2003; 8: 520-550.
3. Borbély AA, Tobler I. Endogenous sleep-promoting substances and sleep regulation. *Physiol Rev* 1989; 69: 605-670.
4. Inoué S. Biology of sleep substances. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc., 1989.
5. Jouvet M. Neuromédiateurs et facteurs hypnogenes. *Rev Neurol (Paris)* 1984; 140: 389-400.
6. Krueger JM, Obál F Jr. Sleep Factors. In: Saunders NA, Sullivan CE, editors. Sleep and Breathing. New York: Marcel Dekker, Inc. 1994; 79-112.
7. Krueger JM. What exactly is it that sleeps? The evolution, regulation and organization of an emergent network property. In: *The Evolution of Sleep: Phylogenetic and functional perspectives*. Cambridge University Press, P McNamara, R Barton and C Nunn eds. (in press).
8. Fang J, Wang Y, Krueger JM. (1997) Mice lacking the TNF 55 kD receptor fail to sleep more after TNF alpha treatment. *J Neurosci* 1997; 17: 5949-5955.
9. Kubota T, Li N, Guan Z, Brown R, Krueger JM. Intrapreoptic microinjection of TNF-alpha enhances non-REMS in rats. *Brain Res* 2002; 932: 37-44.
10. Yoshida H, Peterfi Z, Garcia-Garcia F, Kirkpatrick R, Yasuda T, Krueger JM. State-specific asymmetries EEG in slow wave sleep induced by local application of TNF α . *Brain Res* 2004; 1009: 129-136.
11. Taishi P, Churchill L, Wang M, Kay D, Davis CJ, Guan X, De A, Yasuda T, Liao F, Krueger JM. TNF α siRNA reduces brain TNF and EEG delta wave activity in rats. *Brain Res* 2007; 1156:125-132.
12. Alt J, Bohnet S, Taishi P, Duricka D, Obál F Jr, Traynor T, Majde JA, Krueger JM. Influenza virus-induced glucocorticoid and hypothalamic cytokine mRNA responses in dwarf *Lit/Lit* mice. *Brain Behav Immun* 2005; 21: 60-67.
13. Mullington J, Korth C, Hermann DM, Orth A, Galanos C, Holsboer F, Pollmacher T. Dose-dependent effects of endotoxin on human sleep. *Am J Physiol* 2000; 278: R947-R955.
14. Burnstock G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiol Rev* 2007; 87: 659-797.
15. Hide I, Tanaka M, Inoue A, Nakajima K, Kohsaka S, Inoue K, Nakata Y. Extracellular ATP triggers tumor necrosis factor-alpha release from rat microglia. *J Neurochem* 2000; 75(3): 965-972.
16. Suzuki T, Hide I, Ido K, Kohsaka S, Inoue K, Nakata Y. Production and release of neuroprotective tumor necrosis factor by P2X7 receptor-activated microglia. *J Neurosci* 2004; 24(1): 1-7.
17. Verderio C, Bianco F, Blanchard MP, Bergami M, Canossa M, Scarfone E, Matteoli M. Cross talk between vestibular neurons and Schwann cells mediates BDNF release and neuronal regeneration. *Brain Cell Biol* 2006; 35: 187-201.
18. De A, Krueger JM, Simasko SM. Tumor necrosis factor alpha increases cytosolic calcium response AMPA and KCl in primary cultures of rat hippocampal neurons. *Brain Res* 2003; 981: 133-142.
19. Chen, Z, Gardi J, Kushikata T, Fang J, Krueger JM. Nuclear factor kappa B-like activity increases in murine cerebral cortex after sleep deprivation. *Am J Physiol* 1999; 276: R1812-R1818.
20. Kubota T, Kushikata T, Fang J, Krueger JM. Nuclear factor kappa B (NF κ B) inhibitor peptide

- inhibits spontaneous and interleukin-1 β -induced sleep. *Am J Physiol* 2000; 279: R404-R413.
21. Stellwagen D, Malenka RC. Synaptic scaling mediated by glial TNF- α . *Nature* 2006; 440: 1054-1059.
22. Krueger JM, Obal Jr F. A neuronal group theory of sleep function. *J Sleep Res* 1993; 2: 63-69.
23. Kavanau JL. Sleep and dynamic stabilization of neural circuitry: A review and synthesis. *Behav Brain Res* 1994; 63: 111-126.
24. Fix C, Churchill L, Hall S, Krueger JM. The number of tumor necrosis factor α -immunoreactive cells increases in layer IV of the barrel field in response to whisker deflection in rats. *Sleep* 2006; 29: A11.
25. Tononi G, Cirelli C. Sleep function and synaptic homeostasis. *Sleep Med Rev* 2006; 10: 49-62.
26. Krueger JM, Obal Jr F. Sleep function. *Frontiers in Biosci* 2003; 8: 511-519.
27. Kristiansen K, Courtois G. Rhythmic activity from isolated cerebral cortex EEG. *Clin Neurophysiol* 1949; 1: 265-272.
28. Yasuda K, Churchill L, Yasuda T, Blindheim K, Falter M, Krueger JM. Unilateral cortical application of interleukin-1 β (IL1 β) induces asymmetry in Fos- and IL1 β -immunoreactivity: Implication for sleep regulation. *Brain Res* 2007; 1131: 44-59.
29. Szentirmai É, Yasuda T, Taishi P, Wang W, Churchill L, Bohnet S, McGrath P, Kacsóh B, Jimenez L, Krueger JM. Growth hormone releasing hormone: Cerebral cortical sleep-related EEG actions and expression. *Am J Physiol* 2007; 293: R922-R930.
30. Mukhametov LM. Sleep in marine mammals. *Expt Brain Res* 1984; 8: 227-238.
31. Mahowald MW, Schenck CH. Insights from studying human sleep disorders. *Nature* 2005; 437: 1279-1285.
32. Marks GA, Shaffery JP, Oksenberg A, Speciale SG, Roffwarg HP. A functional role for REM sleep in brain maturation. *Behav Brain Res* 1995; 69: 1-11.
33. Miyamoto H, Katagiri H, Hensch T. Experience-dependent slow-wave sleep development. *Nat Neurosci* 2003; 6: 553-554.
34. Maquet P. The role of sleep in learning and memory. *Science* 2001; 294: 1048-1052.
35. Rector DM, Topchiy IA, Carter KM, Rojas MJ. Local functional state differences between rat cortical columns. *Brain Res* 2005; 1047: 45-55.
36. Churchill L, Rector D, Yasuda K, Rojas MJ, Schactler S, Fix C, Hall S, Yasuda T, Krueger JM. Tumor necrosis factor α increases surface evoked potentials in the barrel field by whisker deflection during sleep in rats. *Sleep* 2006; 29: A12-A13.
37. Walker AJ, Topchiy I, Kouptsov K, Rector DM. (2005) ERP differences during conditioned lick response in the rat. *Sleep* 2005; 28: A15.



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

¿Qué le pasa al cerebro cuando no duerme?

What happens to the brain without sleep?

María Corsi Cabrera

Laboratorio de Sueño

Facultad de Psicología, Posgrado

Universidad Nacional Autónoma de México

Corsi-Cabrera M.

¿Qué le pasa al cerebro cuando no duerme?

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 53-56.

RESUMEN

La vigilia y el sueño, aunque estados diferentes, no pueden disociarse. La calidad de la vigilia, entre otras cosas, depende en buena medida del sueño previo. Los resultados de investigaciones en las que se ha prolongado excesivamente la vigilia muestran que el número de horas de vigilia tiene un impacto significativo sobre la actividad cortical de la vigilia que se empeora linealmente conforme se acumulan horas sin dormir. Los cambios en la organización funcional del cerebro impactan la capacidad de funcionar adecuadamente durante la vigilia. La falta de sueño modifica el balance entre mecanismos cerebrales activadores y desactivadores. Las oscilaciones lentas, que señalan un aumento de la desactivación en la red tálamo-cortical aumentan, al mismo tiempo que lo hacen las oscilaciones rápidas, que indican mayor activación. El acoplamiento temporal, que indica la capacidad de una acción concertada entre diferentes regiones, también se afecta disminuyendo entre los dos hemisferios y aumentando entre regiones del mismo hemisferio. El aumento de oscilaciones rápidas y probablemente también del acoplamiento intrahemisférico sugiere la puesta en marcha de mecanismos

compensatorios. Aunque los cambios, al menos después de 38 horas de privación de sueño son reversibles y el cerebro tiene todavía recursos para compensarlos, preocupa la existencia actual de una tendencia a disminuir las horas de sueño en las sociedades urbanas.

Palabras clave: privación total de sueño, funcionamiento cerebral, EEG, análisis espectral, coherencia.

INTRODUCCIÓN

La vigilia y el sueño, aunque estados diferentes, no pueden disociarse. La calidad de la vigilia, entre otras cosas, depende en buena medida del sueño previo.

Entre las consecuencias que una calidad inadecuada de sueño puede tener sobre la vigilia resaltan la somnolencia diurna y la fatiga, cambios en el estado de ánimo como ansiedad e irritabilidad, y el deterioro de la capacidad de atender adecuadamente a las demandas del ambiente. Especialmente, se deteriora la capacidad para sostener la atención por periodos prolongados de

tiempo y para concentrarse sobre todo ante la presencia de estímulos distractores. La conducta dirigida a metas y las funciones ejecutivas en general, tales como la intención, la inhibición de respuestas irrelevantes, la toma de decisiones y los cambios de estrategia se afectan con una noche de privación ¹.

Los procesos cognitivos complejos requieren por un lado de un nivel óptimo de activación cerebral, y por el otro, de la integración de la información; esto implica la participación concertada de procesos que se llevan a cabo en diferentes sistemas cerebrales.

El análisis de la actividad eléctrica cortical (electroencefalograma o EEG) arroja información sobre ambos mecanismos; la energía o potencia de las oscilaciones eléctricas en frecuencias específicas da un índice, general y local, del nivel de activación y desactivación, y la actividad coherente o acoplamiento temporal entre regiones corticales señala el nivel de actividad concertada entre regiones. La actividad eléctrica de la vigilia en condiciones de reposo, esto es sin llevar a cabo ninguna tarea en particular, informa sobre el estado basal sobre el cual se desarrollaría la recepción de información puntual y el procesamiento de la información. En el laboratorio se ha trabajado sobre el efecto de la privación de sueño en el funcionamiento cortical utilizando el análisis cuantitativo del EEG como instrumento para medir objetivamente sus efectos, tanto en condiciones de reposo, como durante la ejecución de tareas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología empleada en los resultados que se muestran a continuación ha sido fundamentalmente la misma. En estos experimentos se ha registrado el EEG de la vigilia en grupos diferentes de sujetos adultos jóvenes, todos normales y diestros, sea en vigilia en reposo o durante la ejecución de tareas después de una noche habitual de sueño y después de la privación total o selectiva de sueño. Los registros experimentales se llevan a cabo después de la segunda noche en el laboratorio para evitar el efecto de la primera noche y garantizar que los sujetos no tienen un déficit de sueño antes de las mediciones de línea base. Estos protocolos han sido aprobados por los comités de ética correspondientes y los sujetos han dado su consentimiento informado.

El procedimiento para el registro del EEG consiste en la colocación de electrodos sobre la superficie del cuero cabelludo según el Sistema Internacional 10-20, la amplificación en un polígrafo Grass con filtros colocados para permitir el paso de frecuencias entre 1 y 35 Hz y, la digitalización de las señales del EEG en una computadora mediante un convertidor analógico-digital con 12 bits de resolución y una frecuencia de muestreo de 128 Hz. Fuera de línea se inspeccionan visualmente las épocas de EEG y se descartan todas las que contengan artefactos. En el caso de las condiciones de reposo, el EEG se segmenta en épocas de 2 segundos y se promedian todas las épocas de la misma condición; en el caso de las tareas, se analiza 1 segundo de EEG previo a cada estímulo de la tarea cuya respuesta haya sido correcta.

El EEG de cada condición experimental se somete a la Transformada Rápida de Fourier para obtener el espectro de potencia, y a la correlación cruzada producto-momento de Pearson entre las diferentes regiones registradas para obtener el espectro de correlación o acoplamiento temporal a tiempo 0 con programas especialmente desarrollados para ello en la Facultad de Psicología de la UNAM. Se obtiene también la potencia relativa, que es el porcentaje de potencia absoluta de una banda sobre la potencia absoluta total de todas las bandas. Estas variables se obtienen para bandas estrechas de 1 Hz o para las bandas anchas tradicionales, delta, teta, alfa1, alfa2, beta1 y beta2.

RESULTADOS

El efecto de un periodo habitual de vigilia, que en el hombre es más o menos de 16 horas por cada 24 horas, produce cambios significativos la actividad eléctrica y en las relaciones funcionales entre ambos hemisferios y entre regiones de un mismo hemisferio ². La potencia absoluta de las bandas de theta, alfa2, beta1 y beta2 es significativamente mayor después de 16 horas en vigilia (10:00 horas vs 22:00 horas) que después de haber dormido. El acoplamiento temporal entre los dos hemisferios disminuye, en tanto que entre regiones del mismo hemisferio aumenta.

Los cambios en la organización funcional del cerebro se empeoran con la acumulación de 24 y de 32 ² horas de vigilia. En estos experimentos, los sujetos permanecieron despiertos en el laboratorio bajo la vigilancia permanente

de los experimentadores. La privación de sueño afectó más al hemisferio izquierdo que al derecho. Después de 38 hs. de privación, la potencia absoluta de delta aumentó 28%, de theta 37%, de beta1 26% y de beta2 20%. Estos cambios se deben a la acumulación de las horas de vigilia y no a factores circadianos, pues se observan igualmente en el grupo de sujetos que estuvieron despiertos de noche y durmieron de día.

El aumento en la potencia absoluta de todo el espectro, especialmente de delta, así como la disminución en el acoplamiento temporal entre los dos hemisferios en la banda theta no son exclusivos del ser humano y se observan en la rata después de 6 horas de privación total de sueño³. La pérdida de acoplamiento temporal entre los dos hemisferios se observa también después de la privación selectiva de sueño paradójico.

El aumento en la potencia absoluta, medido cada dos horas durante la privación, se correlaciona positiva y significativamente con el número de horas de vigilia (r de Pearson: theta = 0.74; beta1 = 0.70; beta2 = 0.60) y el acoplamiento temporal entre los dos hemisferios en la banda de alfa disminuye linealmente en función del número de horas en vigilia.

Una de las funciones más afectadas por la privación de sueño, como ya se mencionó, es la capacidad para sostener la atención por periodos prolongados. Con el objeto de investigar los efectos de los cambios en la actividad cortical provocados por la privación de sueño sobre la capacidad de sostener la atención y responder a las demandas medioambientales, se registró el EEG cada dos horas durante la ejecución de una tarea de atención sostenida visual (VISAT) de 15 minutos de duración desarrollada expresamente⁴.

El número de omisiones, y el de falsos positivos, así como el tiempo de reacción aumentan linealmente con la privación de sueño ($r = 0.85$). Los efectos de la privación de sueño sobre el funcionamiento cortical se hacen más evidentes durante la ejecución de una tarea de vigilancia cuando el cerebro tiene que responder a demandas medioambientales. El aumento en la potencia absoluta durante la ejecución de la tarea es considerablemente mayor que el observado durante el reposo: 150% para theta, 171% para alfa1, 125% para alfa2 y 150% para beta1

y el aumento es lineal en función del número de horas de vigilia (r : theta = 0.65; alfa1 = 0.56; alfa2 = 0.60; beta1 = 0.64; $p < 0.0001$).

La amplitud del potencial evocado visual ante los estímulos de la tarea VISAT después de 38 horas de privación total de sueño disminuye hasta en un 60% y la latencia de los potenciales aumenta⁵. Los potenciales evocados pueden considerarse como el resultado de un promedio espacial de los potenciales generados por la masa neural subyacente, y su amplitud depende del número de neuronas corticales que están activadas o inhibidas sincrónicamente en un momento dado, por lo que la disminución de voltaje puede deberse a mayor variabilidad provocada por la inestabilidad de los mecanismos de alerta.

Los cambios en la potencia absoluta, en la amplitud del potencial y en el tiempo de reacción se correlacionan linealmente (r entre potencia absoluta y tiempo de reacción: theta = 0.54; alfa1 = 0.46 no significativa; alfa2 = 0.50 y beta1 = 0.49. r entre amplitud del potencial y tiempo de reacción: P180 = - 0.59; N382 = -0.54 y P718 = - 0.47. r entre amplitud del potencial y aumento de potencia: r : theta = - 0.64; alfa1 = - 0.54; alfa2 - 0.42 y; beta1 - 0.60).

Los efectos de la privación total de sueño son más leves en la mujer, pero la recuperación es más lenta⁶.

DISCUSIÓN

Los resultados anteriores muestran que el número de horas de vigilia tiene un impacto significativo sobre la actividad cortical de la vigilia que se empeora conforme se acumulan horas sin dormir. Los cambios en la organización funcional del cerebro impactan la capacidad de funcionar adecuadamente durante la vigilia.

La falta de sueño modifica el balance entre mecanismos activadores y desactivadores. Las oscilaciones lentas, que señalan un aumento de la desactivación en la red tálamo-cortical aumentan, al mismo tiempo que las oscilaciones rápidas, que indican mayor activación. El acoplamiento temporal, que indica la capacidad de una acción concertada entre diferentes regiones, también se afecta disminuyendo entre los dos hemisferios y aumentando entre regiones del mismo hemisferio. El aumento de oscilaciones rápidas y probablemente también del acoplamiento intrahemisférico sugiere la puesta en marcha de mecanismos

compensatorios. Cambios semejantes, de disminución en el metabolismo cerebral en sistemas involucrados en la activación cerebral e incrementos metabólicos en regiones involucradas en las tareas evaluadas se han observado en estudios con resonancia magnética funcional.

Aunque los cambios, al menos después de 38 horas de privación de sueño son reversibles y el cerebro tiene todavía recursos para compensarlos, preocupa la existencia actual de una tendencia a disminuir las horas de sueño en las sociedades urbanas. Lo cierto es que la falta de sueño provoca un aumento en los errores que se cometen en la vida real al ejecutar tareas que demandan atención y toma de decisiones, así como en la velocidad para corregirlos ⁷, tal y como ocurre al manejar vehículos ⁸ y durante las guardias médicas prolongadas ⁹. Cuando la falta de sueño se suma a cantidades moderadas de alcohol, tan bajas (0.010 g/100 ml de sangre) como las que se ingieren habitualmente en eventos sociales, se cometen más errores en simuladores de manejo de vehículos ¹⁰. La falta de conciencia del error cometido es especialmente evidente en jóvenes y en hombres adultos que sobrevaloran sus capacidades, en comparación con las mujeres que tienen mejor conciencia de la limitación de sus capacidades y evitan manejar ¹¹.

BIBLIOGRAFÍA

1. Corsi-Cabrera, M. Funcionamiento cortical cuando el sueño no ha sido suficiente. En: Trastornos del Dormir. M.Valencia, R. Salín, R. Pérez. McGraw-Hill Interamericana, 2000, pp 109-126.
2. Corsi-Cabrera M, Ramos J, Arce C, y cols. Changes in the waking EEG as a consequence of sleep and sleep deprivation. *Sleep* 1992;15:550-555.
3. Ugalde, E., Corsi-Cabrera, M., Juárez, J., y cols. Waking electroencephalogram activity as a consequence of sleep and total sleep deprivation in the rat. *Sleep*, 1994;17:226-230.
4. Lorenzo Y, Ramos J, Arce C, y cols.. Effect of total sleep deprivation on reaction time and waking EEG activity in man. *Sleep* 1995;18:346-54.
5. Corsi-Cabrera M, Arce C Del-Río-Portilla Y, y cols. Amplitude reduction in visual event related potentials as a function of sleep deprivation. *Sleep*, 1999, 22:181-191.
6. Corsi-Cabrera M, Sánchez AI, Del-Río-Portilla Y, y cols. Effects of 38 h of total sleep deprivation on the waking EEG in women: sex differences. *I. J. Psychophysiol.*, 2003; 50: 213-224.
7. Van Dongen HPA, Maislin G, Mullington JM, y cols. The cumulative cost of additional wakefulness: dose-response effects on neurobehavioral functions and sleep physiology from chronic sleep restriction and total sleep deprivation. *Sleep*, 2003; 26: 117-126.
8. Tsai LL, Young HY, Hsieh S, y cols. Impairment of error monitoring following sleep deprivation. *Sleep* 2005;28:707-713.
9. Howard SK, Gaba DM, Rosekind MR, y cols. The risks and implications of excessive daytime sleepiness in resident physicians. *Acad Med*. 2002;77:1019-25.
10. Banks S, Catcheside P, Lack L, y cols. Low levels of alcohol impair driving simulator performance and reduce perception of crash risk in partially sleep deprived subjects. *Sleep*, 2004;27:1063-1067.
11. Barret PR, Horne JA, Reyner LA. Sleepiness combined with low alcohol intake in women drivers: greater impairment but better perception than men? *Sleep*, 2004; 27: 1057-1062.

Autor responsable:

Dra. María Corsi Cabrera

Facultad de Psicología, Posgrado

Av. Universidad 3004

México, D.F. 04510

Teléfono 56 22 22 51

corsi@servidor.unam.mx



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Malnutrición y el ciclo sueño-vigilia en la rata

Malnutrition and the wake-sleep cycle in the rat

León Cintra McGlone, Pilar Durán Hernández

Instituto de Neurobiología UNAM. Campus UNAM, Juriquilla, Querétaro

Cintra-McGlone L, Durán-Hernández P.

Malnutrición y el ciclo sueño-vigilia en la rata.

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 57-62.

RESUMEN

En este artículo se hace una revisión somera de los trabajos elaborados por nuestro grupo de investigación así como por otros grupos a nivel internacional, desde principios de los años ochentas hasta el 2006. Se inicia con el primer estudio de sueño y ritmicidad circádica empleando el modelo de malnutrición con una dieta hipoproteínica de 8% de caseína para continuar con el modelo de 6% de esta proteína elaborado en la Worcester Foundation for Experimental Biology, por el grupo de los doctores Oscar Resnick y Peter Morgane, tratando de simular los Síndromes de Kwashiorkor y Marasmo que se presentan en la población humana. Se utilizaron técnicas de implante mediante cirugía estereotáxica para obtener el electrocorticograma de estructuras corticales, así como de otras como el hipocampo, señales electrofisiológicas que después fueron convertidas a Hertz mediante el algoritmo de la Transformada rápida de Fourier y análisis de correlación inter e intrahemisférica. También se utilizó la herramienta de la privación total de sueño y selectiva de sueño MOR así como una técnica moderada de estrés por restricción de movimiento.

Palabras clave: Malnutrición en la rata, ciclo sueño-vigilia, estados de vigilancia, bandas de frecuencia, ECoG, EMG, privación de sueño, estrés.

Malnutrición y el ciclo sueño-vigilia

Durante los últimos 50 años ha surgido un gran interés por el estudio de los efectos provocados por la desnutrición y posteriormente la malnutrición tanto prenatal como crónica, sobre el desarrollo del sistema nervioso central (SNC) y sus repercusiones funcionales en la rata. Con este propósito se han estudiado diversos modelos de desnutrición y malnutrición que simulen las complejas condiciones en que se presentan en el hombre¹⁻⁶. La desnutrición y malnutrición son fenómenos complejos, ya que en ellos convergen factores sociales, económicos, culturales y políticos cuya solución dista de ser fácil.

Durante los últimos años numerosos estudios han revelado que el SNC es altamente vulnerable a diversas alteraciones del medio ambiente (factores epigenéticos), sobre todo cuando éstas ocurren durante el periodo de crecimiento rápido o periodo crítico⁷. Este concepto ha evolucionado en el SNC y se refiere a los procesos de gliogénesis, neurogénesis, sinaptogénesis y mielinización que ahora se sabe que son periodos muy vulnerables de este sistema.

En años recientes, los efectos de la desnutrición y malnutrición pre y posnatales en la rata han sido motivo de

estudio en diversos laboratorios. Dentro de los parámetros de interés se encuentran los efectos que producen en el ciclo de sueño y vigilia, dado que el sueño y su variación cíclica pueden servir como índice de integridad funcional.

Jacobs y McGinty, en 1971, reportaron que después de una privación total de alimento en ratas de 6 a 11 días en un ciclo de luz-obscuridad de L12/O12, un incremento en la vigilia (VIG) y una reducción del sueño de ondas lentas (SOL) y en el sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR)⁸. Leathwood y cols. (1974) estudiaron los patrones de sueño en ratones blancos desnutridos y no encontraron diferencias significativas en el tiempo consumido en el SOL o el SMOR⁹. Benesová y Dyntarová (1975) usaron dietas hipoproteínicas y normales en ratas (día 0 al 40); y al registrarlas en el estado adulto, encontraron que disminuyó el tiempo total de sueño y se redujeron el SOL y el SMOR¹⁰. Drucker-Colín y cols (1976), emplearon una dieta normal con contenido de 25% de proteína y otra con sólo 8% de proteína y encontraron una reducción en el SMOR, una duración mayor en el ciclo de sueño y mayor frecuencia en el despertar. También estudiaron el patrón de sueño en niños crónicamente desnutridos y encontraron un decremento de 53% en el SMOR en comparación con niños normales de su edad¹¹. Rojas y Posadas (1977) utilizaron dietas deficientes en nutrimentos y dietas normales en la rata durante dos periodos de 25 días iniciados a partir del destete, y mostraron que en los desnutridos hay un incremento en la latencia del SMOR y una disminución en el tiempo total del mismo y del SOL y un incremento de la VIG¹². Borbély (1977) estudió ratas durante 8 días sucesivos con un ciclo de L12/O12, usando 48 horas como control, 80 horas de privación total de alimento y 64 horas de restitución de alimento. Durante la privación de alimento, el SMOR disminuyó en el periodo de obscuridad y aumentó en el periodo de luz, y los episodios totales de sueño disminuyeron en ambos periodos de luz y obscuridad¹³. Salas y cols. (1983) emplearon una privación nutricional y sensorial, separando la mitad de la camada de la madre por 23 días, y efectuaron el registro de los 120 a 150 días de edad y encontraron un incremento en la duración del SMOR durante el día y un incremento del SOL y de la VIG durante la noche¹⁴. Forbes y cols. (1977) usaron dietas normal e hipoproteínica con sólo 8% de proteína en ratas macho Sprague-Dawley en un ciclo 12L/12O durante

3 días, obtuvieron un registro de 24 horas en el último día y encontraron diferencias en la distribución circádica del SMOR y un incremento de éste en la fase oscura¹⁵. Cintra y cols. (1988) utilizaron dietas normal e hipoproteínica con sólo 8% de caseína en ratas Sprague-Dawley macho (que se han utilizado en todos nuestros estudios) malnutridas pre y posnatalmente en un ciclo de 12L/12O durante 4 días y 8 días en obscuridad continua. Las registraron a los 60, 120 y 220 días de edad y encontraron pocos cambios en los estados de vigilancia, además que el SMOR presentó mayores cambios con la edad, seguido del SOL y la VIG; en cuanto al análisis circádico, mostró que los animales malnutridos siguen un patrón de distribución de los estados de vigilancia significativamente distinto al de los normales; los valores promedio de la amplitud del ritmo circádico de los estados de vigilancia fueron mayores en los animales malnutridos, asimismo fueron mayores en los días de fotoperiodo que en los días de obscuridad continua (Fig. 1). La acrofase de estos estados en los malnutridos presentó mayores retrasos en los días de obscuridad continua. La relación α/p siempre fue mayor en los controles que en los malnutridos. El cambio de luz a obscuridad y viceversa de estos estados de vigilancia lo hacen en un tiempo menor los malnutridos que los normales¹⁶.

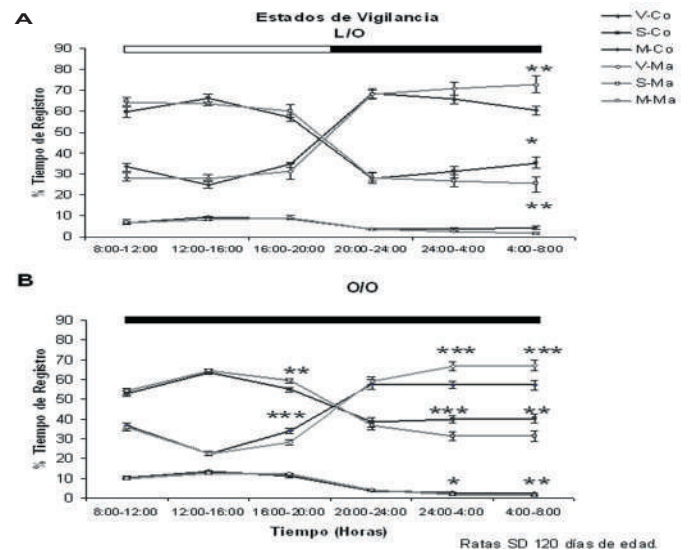


Figura 1. Duración de los estados de vigilancia de ratas de 120 días de edad que fueron sometidas a dieta normal (25%) o baja en proteínas (8%). La parte A corresponde a los valores obtenidos durante el ciclo de 24 horas 12L/12O medidos durante periodos de 4 horas en los dos días control. La parte B muestra los resultados obtenidos durante los 5 días experimentales de obscuridad constante. Cada punto representa la media de 5 animales (+EE). En la gráfica superior, los cambios significativos se observan de las 4 a las 8 horas, mientras que en la gráfica inferior se distribuyen de las 16 a las 8 horas (* $p < 0.05$, ** $p < 0.02$, *** $p < 0.01$, prueba t-student de 2 colas).

Experimentos de privación total de sueño y privación de SMOR.

Durán y cols. (1999), efectuaron un estudio de 5 días consecutivos en ratas macho malnutridas pre y posnatalmente (malnutrición crónica) de 30 días de edad con una dieta de 6% de caseína. El primer día se tomó como registro basal control, en el segundo día se les sometió a una privación total de sueño en un cilindro rotatorio con baja velocidad y se vio la recuperación los tres días siguientes. Encontraron en el primer día que las ratas malnutridas mostraron un incremento significativo del SOL durante las fases de luz y oscuridad del periodo circádico, o sea en las 24 horas de registro en comparación de las ratas normales. El SMOR se incrementó de manera significativa en estas ratas durante las 12 horas de la fase de oscuridad del día basal, pero el registro del electrocorticograma de la VIG se redujo de manera significativa durante ambas fases de luz y oscuridad como resultado de los incrementos de sueño. Después del día de privación de sueño, las ratas malnutridas jóvenes no mostraron ningún rebote del SOL y, contrario a las ratas control, no regresaron a los niveles normales de SOL en los tres días de recuperación. Además, las ratas malnutridas tampoco presentaron un rebote significativo de SMOR, especialmente durante la fase oscura. Estos resultados fueron muy importantes ya que por primera vez nos dimos cuenta de que las ratas malnutridas jóvenes no presentaban estos rebotes funcionales tanto de SOL como de SMOR, y este estudio mostró una alteración importante producida por la malnutrición crónica en control homeostático y circádico de los estados de vigilancia antes y después de la privación total de sueño¹⁷.

Posteriormente efectuamos otro estudio de privación selectiva de sueño MOR en ratas de 30 días de edad¹⁸, en este caso utilizamos tanto la malnutrición prenatal (*in utero*) como la crónica con una dieta hipoproteínica de 6% de caseína con el método tradicional de la plataforma rodeada de agua en un protocolo similar al estudio anterior, o sea que se registraron tres grupos de ratas: macho control, malnutrida prenatal (MP) y malnutrida crónica (MC) durante 5 días consecutivos. El primer día sirvió como registro basal control; en el segundo día se privó a los animales en la plataforma rodeada de agua y posteriormente se vio la recuperación en los tres días siguientes. Aquí empleamos

otra estrategia para lograr lo que se conoce en la literatura como “experimento conflicto”; es decir, los animales estuvieron en un ciclo invertido de 12O/12L desde la gestación hasta la edad de 30 días con la finalidad de que cuando terminaran el día de la privación de SMOR, iniciaran su periodo de recuperación en la fase de actividad u oscura en lugar de la fase de reposo como en el experimento anterior. Otro aspecto importante que consideramos es que debido al tamaño diferente de los animales malnutridos crónicos fue necesario hacer un ajuste en el tamaño de la plataforma empleada, la cual fue más pequeña para asegurar que las condiciones experimentales fueran similares. Además, en este caso efectuamos un análisis circádico de los estados de vigilancia por bloques de 4 horas, como también efectuamos mediante la transformada rápida de Fourier, que es un algoritmo que nos permite transformar nuestra señal del electrocorticograma (ECoG) a Hertz, y con ello trabajamos las tres bandas mas representativas del ECoG de la rata: Delta, Theta y Actividad de Ondas Rápidas. Los resultados que se obtuvieron fueron: En el grupo de MP después de la privación de SMOR, los dos primeros días de recuperación, la VIG se incrementó significativamente al igual que el SOL. La malnutrición prenatal alteró las fases de los ritmos de la VIG y el SMOR y redujo la amplitud del ritmo de SOL. El incremento compensatorio del SMOR después de la privación se vio confinado a las primeras 4 horas de la fase de actividad en todos los grupos experimentales y se observó otro rebote de SMOR 24 horas más tarde en los MP. El rebote funcional del SMOR fue significativamente mayor en los MC que en los controles y en los MP, y se presentó solo en las primeras 4 horas después de la privación. Antes y después de la privación de SMOR, la distribución circádica de ambos estados de sueño y las bandas de frecuencia electrocorticales mostraron diferentes fases circádicas a la misma hora del día en los controles MP y MC.

Este experimento reforzó la idea de que la malnutrición hipoproteínica provoca importantes efectos en los mecanismos circádicos y homeostáticos que controlan el sueño. Por otra parte, se puede pensar que la compleja estructura que controla la temporalidad de las ratas malnutridas no permite una sincronización adecuada de algunos parámetros del sueño, en particular del sueño MOR en relación los estímulos ambientales.

Otros estudios

En otro estudio, Cintra y cols. (2001) examinaron las relaciones funcionales entre el hipocampo y la corteza visual¹⁹. Este estudio fue diseñado para poder analizar con otra estrategia utilizando el análisis espectral y los análisis de correlación, cómo interactúan estas estructuras a un nivel intra e interhemisférico en los estados de vigilancia. Para este estudio, también se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley de 30 días de edad y se formaron tres grupos como en el experimento anterior: controles, malnutridos prenatales (MP) y malnutridos crónicos (MC). En este estudio, dado que nos interesaba estudiar la lateralidad del cerebro de los tres grupos que se examinaron, se determinó si eran animales zurdos o diestros mediante el método de Afonso y cols.²⁰. Siete días antes de que cumplieran la edad, se implantaron electrodos de acero inoxidable mediante cirugía estereotáxica en las cortezas occipitales derecha e izquierda y en el CA1 de la formación hipocámpica en su parte más dorsal izquierda y derecha, y se colocaron electrodos en los músculos del cuello para la obtención del electromiograma; asimismo, se conectaron estos electrodos a una terminal común en el cerebelo como referencia y tierra.

Se efectuaron registros a los 30 días de 24 horas y se almacenaron tanto en papel poligráfico como en una computadora PC. Además, se seleccionaron 300 segmentos libres de artefactos durante 2 horas de las 10.00 a las 12.00 hrs. durante la fase de luz de 12 horas que inició a las 8.00 am., para efectuar los análisis de correlación. Como en los experimentos anteriores, se graficaron en una curva los ritmos circádicos de los tres estados de vigilancia: VIG, SOL Y SMOR. Además se efectuó el análisis de correlación, el cual nos indica básicamente la similitud que existe entre dos señales de actividad eléctrica espontánea (ECoG y la actividad hipocámpica) así como las relaciones funcionales entre dos regiones cerebrales.

Normalmente, cuando se hace una gráfica de correlación, la escala que se utiliza va de +1 a -1; si la correlación se acerca a uno en ambas estructuras, esto nos indica que disparan los potenciales de campo de manera muy similar; pero si una región se acerca a 1 y la otra se queda por ejemplo en 0.2, nos indica que disparan en forma diferente y de esta manera se pueden hacer las inferencias

de cómo están funcionando. Durante el análisis visual de las señales a lo largo de las 24 horas de registro, se observó que los MC y MP presentaron una disminución significativa de la VIG y el SMOR en el primer bloque de 4 horas de la fase de oscuridad, mientras que el SOL presentó una disminución significativa únicamente en el bloque intermedio de 4 horas de la fase de luz.

Se efectuó una grafica de la distribución de la correlación (o sea la dispersión) para todas las frecuencias estudiadas (1-32 Hz) en los tres estados de vigilancia (VIG, SOL y SMOR); en el eje de las ordenadas, se graficó el índice de correlación intra o interhemisférica para los grupos control MP y MC, lo cual permitió observar de manera gráfica y condensada los efectos diferenciales de la malnutrición hipoproteínica, prenatal o crónica.

Se pudo observar que el patrón de dispersión que presentan los controles en la correlación intrahemisférica es distinto al de los grupos experimentales. Mientras en los controles existe una dispersión desde 0.2 hasta 0.60 del índice de correlación en los tres estados en ambos hemisferios, en el MP se presentan mayores índices de correlación en el hemisferio izquierdo que en el derecho, en los tres estados de vigilancia. En cambio, el grupo MC presenta la dispersión de los índices de correlación de las frecuencias de 1-32 Hz en el hemisferio izquierdo desde 0 hasta más de 50 %, mientras que el hemisferio derecho presenta índices con valores negativos de todos los estados de vigilancia (Fig.2).

En la correlación interhemisférica en ambos hipocampos del grupo control, la dispersión de los índices de correlación más altos se presentaron en el SOL y el SMOR, mientras que en las cortezas la dispersión es más amplia y siempre en valores positivos. En los MP, se observó en ambos hipocampos que los índices de correlación durante el SOL se concentraron en valores más altos que en la VIG y el SMOR, mientras que las cortezas de los tres estados presentaron una dispersión similar entre sí, con valores positivos. Los hipocampos en el grupo MC presentaron una distribución de los índices de correlación en valores negativos cercanos a -0.50, en tanto que en las cortezas la dispersión de los índices se observa en valores positivos pero bajos, menores a 0.50 en los tres estados de vigilancia.

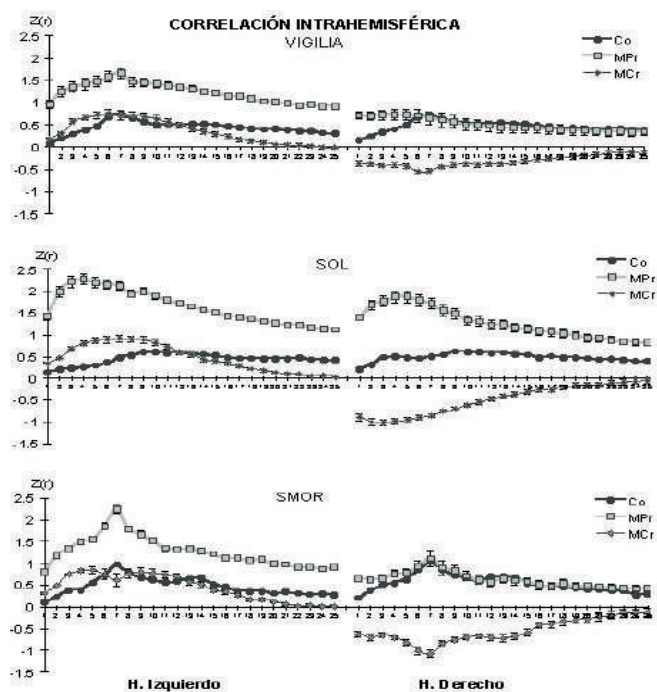


Figura 2. Comparación de la correlación intrahemisférica entre los grupos Co, MP y MC, en los tres estados de vigilia y en ambos hemisferios, derecho e izquierdo (ver texto).

En otro estudio, Durán y cols. (2006) estudiaron el efecto de un estrés moderado en el ciclo sueño-vigilia de ratas malnutridas prenatalmente²¹. Se sabe que la malnutrición prenatal y el estrés de tipo físico y psicológico afecta la arquitectura del sueño en la rata adulta; y dado que la malnutrición y el estrés coexisten en las poblaciones humanas, en este estudio se combinaron ambos insultos para estudiar los parámetros del ciclo sueño-vigilia después de un estrés moderado en ratas Sprague-Dawley macho de 90 a 120 días de edad. Como en experimentos anteriores, las ratas fueron implantadas con electrodos de acero inoxidable mediante la técnica estereotáxica, en la corteza prefrontal, en la formación hipocámpica y en los músculos dorsales del cuello, 7 días antes de su registro. El experimento consistió en el registro, el primer día, de 4 horas en el inicio de la fase de oscuridad (de las 8.00 a las 12 horas) que se tomó como el día basal 1. En el segundo día, las ratas fueron sometidas a un estrés moderado colocándolas en un restrictor de movimiento (el cual es un tubo de plexiglás) durante 20 minutos previos a la fase de oscuridad, y después fueron registradas las primeras 4 horas de este periodo de actividad. Posteriormente se analizaron los resultados de los tres estados de vigilia: VIG, SOL y SMOR en bloques de

2 horas. En el día basal, en las primeras 2 horas las ratas MP aumentaron el tiempo de SMOR; y en el segundo bloque de 2 horas, aumento el tiempo de la VIG, y se redujo el de SOL al ser comparados con el grupo control. Después del estrés, la arquitectura del sueño de los grupos no se modificó en las primeras 2 horas en relación con el día basal. En el segundo bloque de 2 horas, ambos grupos mostraron reducciones significativas en el SOL y en el SMOR, pero en particular el grupo de MP no presentó el SMOR, en este tiempo. De estos resultados se puede inferir que los disturbios en el ciclo sueño-vigilia de las poblaciones humanas pueden ser más severos en las poblaciones malnutridas sometidas a experiencias de estrés.

Podemos concluir diciendo que, en cualquier tipo de maniobra experimental, las ratas malnutridas se comportan de una manera diferente que las normales por la alteración homeostática que tienen en su ciclo sueño-vigilia y su ritmicidad circádica.

BIBLIOGRAFIA

1. Sugita, N. Comparative studies on the growth of the cerebral cortex VII. On The influence of starvation at an early age upon the development of the cerebral cortex. Albino rat. J. Comp. Neurol., 29:177-240, 1918.
2. Dobbing, J. Undernutrition and the developing brain: The use of animal models to elucidate the human problem. En: Chemistry and Brain Development Paoletti, R. y Davison, A. (Eds.) Plenum Press, New York (1971) pp 399-411.
3. Leuba, G. y Rabinowicz, Th. Long term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition of mouse cerebral cortex. I Cellular densities, cortical volume and total numbers of cells. Exp. Brain Res. 37: 283-298, 1979a.
4. Leuba, G. y Rabinowicz, Th. Long term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. II. Evolution of dendritic branchings and spines in the visual region. Exp. Brain Res. 37: 299-308, 1979b.
5. Resnick, O., Miller, M. Forbes, W., Hall, R., Kemper, T. Bronzino, J. y Morgane, P. J. Developmental protein malnutrition: Influences on the central

- nervous system of the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 3: 233-246, 1979.
6. Resnick, O. Morgane, P. J. Hasson, R. y Miller, M. Overt and Hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 6: 55-75, 1982.
7. Dobbing J. y Sands, J. Quantitative growth and development of human brain. *Arc. Dis. Child.* 48: 757-767, 1973.
8. Jacobs, B. L. and McGinty, D. J. Effects of food deprivation on sleep and wakefulness in the rat. *Exp. Neurol.* 30:212-222, 1971.
9. Leathood, P. D. Busch, M. S., Berent, C. D. y Valatx, J. L. Paradoxical sleep and avoidance learning of swiss white mice after early undernutrition by raising in large litters. *Experientia* 30: 1428, 1974.
10. Benesová, O. y Dyntarová, H. The effect of early postnatal malnutrition and pharmacological treatment on sleep time in adult rats. *Act. Nerv. Sup. (Praha)* 17: 63-64, 1975.
11. Drucker-Colín, R. R., Shkurovich, M., Ugartechea, J. C., Domínguez, J y Rojas-Ramírez, J. A. Sleep patterns in malnutrition. *Proceedings, 16th Annual Meeting, Society for the Psychological study of sleep. Cincinnati, USA, Abstracts.* p 95, 1976.
12. Rojas Ramírez, J. A. y Posadas, A. A. Ciclo sueño-vigilia en ratas sometidas a periodos de deficiencia nutricional postdestete. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 29: p 237, 1977.
13. Borbély, A. A. Sleep in the rat during food deprivation and subsequent restitution of food. *Brain Res.* 124: 457-471, 1977.
14. Salas, M., Ruiz, C., Torrero, C. y Pulido, S. Neonatal food restriction: its effects on the sleep cycles and vigil behavior of adult rats. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 32: 209-215, 1983.
15. Forbes, W. B., Tracy, C. A., Resnick, O. y Morgane, P. J. Effects of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Exp. Neurol.* 57: 440-450, 1977.
16. Cintra, L., Diaz-Cintra, S., Galván, A., y Morgane, P. J. Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 36: 3-17, 1988.
17. Durán, P., Galván, A., Granados, L., Aguilar-Roblero, R. y Cintra, L. Effects of protein malnutrition on the vigilance states and their circadian rhythms in 30day-old rats submitted total sleep deprivation. *J. Nutritional Neurosci.* 2: 127-138, 1999.
18. Cintra, L., Durán, P., Guevara, M. A., Aguilar, A. y Castañón-Cervantes, O. Pre- and post-natal protein malnutrition alters the effect of rapid eye movements sleep-deprivation by the platform technique upon the electrocorticogram of the circadian sleep-wake cycle and its frequency bands in the rat. *J. Nutritional Neurosci.* 5(2): 91-101, 2002.
19. Cintra, L., Durán, P. y Guevara, M. A. Relaciones funcionales hipocampo-corteza en la rata malnutrida. En: Javier Velázquez Moctezuma (Ed). *Temas Selectos en Neurociencias II. UAM-PUIS* pp.119-147, 2001.
20. Afonso, D., Santana, C. y Rodríguez, M. Neonatal lateralization of behavior and brain dopaminergic asymmetry. *Brain Res. Bull.* 32(1): 11-16, 1993.
21. Durán, P., Galler, J. R. Cintra, L. y Tonkiss, J. Prenatal malnutrition and sleep states in adult rats: Effects of restraint stress. *Physiology and Behavior* 89: 156-163, 2006.



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

La vigilia como regulador del sueño

Waking as regulator of sleep

René Drucker Colín¹, Fabio García-García²

¹Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México.

²Departamento de Biomedicina, Instituto de Ciencias de la Salud
Universidad Veracruzana

Drucker-Colín R, García-García F.
La vigilia como regulador del sueño.
Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 63-67.

RESUMEN

El sueño es un estado que puede ser influenciado por un gran número de estímulos externos e internos. Estos factores tienen la capacidad de modificar el patrón de sueño dependiendo de la naturaleza del estímulo. Por lo tanto, el patrón de sueño que un individuo tiene día con día no es el mismo, el tiempo total de sueño lento o de sueño de movimientos oculares rápidos, la duración, la latencia o frecuencia de cada fase dependerá de la experiencia previa ocurrida antes de ir a dormir. La calidad de vigilia, en todo caso, es la responsable de inducir diferentes patrones de sueño. En el presente trabajo, revisaremos las evidencias experimentales que apoyan esta hipótesis acerca de una de las funciones que para el sueño se ha propuesto.

Palabras clave: estrés, patrón de sueño, factores inductores de sueño, Fos.

INTRODUCCIÓN

En años recientes, nuestro grupo de investigación ha propuesto que la arquitectura del ciclo vigilia-sueño, es

decir, la duración y alternancia con la cual se distribuyen las diferentes fases, es dependiente de la vigilia previa. Se ha sugerido que la calidad de vigilia así como la duración de ésta determinan un patrón particular de sueño. Es decir, dependiendo de la naturaleza del estímulo(s) recibido(s) durante la vigilia, serán los cambios que se produzcan en el sueño de ondas lentas (SOL) y en el sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR).

Los cambios que se presentan en la arquitectura del ciclo vigilia-sueño como consecuencia de los eventos previos pueden deberse a las modificaciones que ocurren en la bioquímica cerebral, es decir, a la interacción orquestada o en paralelo entre neurotransmisores, hormonas y péptidos. Dicha hipótesis se basa en el hecho de que sabemos que el sueño puede ser modificado por la administración de una variedad muy amplia de sustancias, los denominados factores inductores de sueño [FIS] (Tabla 1). De acuerdo con nuestra hipótesis, la síntesis y liberación de estos FIS estaría en función de la vigilia previa. Con el fin de elucidar sobre esta hipótesis y tomando como ejemplo una situación

de estrés, en el presente trabajo se expone cuáles pudieran ser los FIS generados por el estrés, responsables de producir cambios en el patrón de sueño subsiguiente.

Tabla 1. Factores Inductores de Sueño (FIS)

<i>Neurotransmisores</i>	<i>SOL</i>	<i>SMOR</i>
Acetilcolina	0	↑
Serotonina	↑	0
Oxido nítrico	↑	↑
Histamina	↑	↓
<i>Péptidos y Hormonas</i>		
Insulina	↑	↑
Prolactina	0	↑
Hormona de Crecimiento	0	↑
Somatostatina	0	↑
Colecistoquinina	↑	↑
Factor liberador de corticotropina	0	↑
Factor liberador de la hormona de crecimiento	↑	0
Péptido vasoactivo intestinal	0	↑
Péptido del lóbulo intermedio parecido a la corticotropina	0	↑
Interleucina-1	↑	0
Interleucina-8	↑	0
Interferón- α	↑	0
Péptido inductor del sueño delta	↑	0
Eritropoietina	↑	0
Factor de necrosis tumoral	↑	0
Péptidos muramílicos	↑	0
Lípido A	↑	0
β -Endorfina	↑	↓
Uridina	↑	0
Adenosina	↑	0
Oleamida y Anandamida	↑	0

SOL Sueño de ondas lentas, SMOR Sueño de movimientos oculares rápidos, 0 no cambia, ↑ aumenta, ↓ disminuye.

Efectos del estrés sobre el patrón de sueño

Se ha mostrado que el estrés provocado por 2 horas de inmovilización, al inicio del periodo de oscuridad, produce un aumento en el tiempo total de SMOR de la rata. Este incremento de SMOR observado en animales estresados comúnmente se presenta en animales que son privados de SMOR y se interpreta como un mecanismo homeostático que compensa el tiempo de SMOR perdido. Sin embargo, la privación de SMOR también por 2 horas pero utilizando la técnica del florero invertido no induce rebote de SMOR como lo hace el estrés por inmovilidad. Por lo tanto, se ha sugerido que el rebote de SMOR que se observa posterior al periodo de privación es una consecuencia directa del

estrés producido por la privación y no un efecto *per se* de la privación de SMOR.

Adicionalmente, se ha reportado que la intensidad y naturaleza del estrés son dos factores importantes que determinan si se presenta o no un rebote de SMOR. Por ejemplo, un periodo de estrés por inmovilidad de una hora parece ser más eficiente que un periodo de 2 horas. Durante el periodo de una hora se obtiene 57% más SMOR en comparación con 32% obtenido con 2 horas; incluso se obtiene un aumento de SOL de 17% con una hora, lo cual no sucede en los animales que fueron sometidos a 2 horas de estrés (Rampin et al, 1991, Bonnet et al., 1997).

Con respecto a la naturaleza del estímulo generador de estrés, se ha observado que la exposición durante 5 minutos a un choque eléctrico asociado a una conducta de escape produce un decremento significativo tanto en el tiempo total de SOL como de SMOR únicamente el primer día de registro, ya que en el segundo día sólo se reduce el SMOR y se recupera éste hasta el séptimo día. De manera interesante, otros estudios han mostrado que ratas expuestas a estrés de tipo social o de locomoción forzada presentan un incremento significativo en el tiempo total de SOL sin afectar el tiempo de SMOR.

Los resultados anteriormente descritos sugieren de manera clara que la intensidad y naturaleza del estrés son factores que determinan qué fase del ciclo de sueño se verá afectada, lo cual a su vez sugiere que la razón de ello sea por los mecanismos bioquímicos específicos que responden a cada tipo de estrés, así como de las regiones cerebrales sobre las que éstos actúan. Se conoce muy bien que durante una situación de estrés se induce la liberación de la hormona adenocorticotrópica (ACTH) de la pituitaria anterior. La liberación de ACTH por la pituitaria es regulada por el factor de liberación de corticotropinas (CRF), el cual es liberado en las neuronas neurosecretoras parvocelulares del núcleo paraventricular hipotálamico. Una vez liberado, el CRF pasa por el sistema portahipofisial a la hipófisis, donde es el responsable de inducir la ruptura de la proopiomelanocortina (POMC), proteína precursora de la cual se deriva la ACTH y otros péptidos como las endorfinas, el péptido del lóbulo intermedio parecido a la corticotropina (CLIP) y la hormona estimuladora de los melanocitos (α -MSH). La administración de alguna de estas

sustancias que se liberan por el estrés afecta al sueño (Tabla 1), lo cual sugiere que muy posiblemente estos FIS al ser liberados durante una situación de estrés, pudieran estar participando en los cambios observados en el patrón de sueño post-estrés (García-García, 2000).

Estudios recientes han mostrado que la administración intracerebroventricular del antagonista alpha-helical (9-41) para el receptor de CRF en animales que han sido sometidos a estrés por inmovilización durante 2 horas, impide el rebote de SMOR (Figura 1). Se ha sugerido que la vía de acción del CRF liberado en una situación de estrés sería a través de su acción sobre algunos de los núcleos del tallo cerebral. Las neuronas de los núcleos parabraquial medial, núcleo dorsal tegmental y el núcleo oral pontino expresan receptores a CRF (Austin et al., 1997, Radulovic et al., 1998) y como es sabido, están relacionados directamente con el mantenimiento de la etapa de SMOR. Esto sugiere la posibilidad de que el CRF pueda actuar activando de forma directa los núcleos pontinos en donde se han descrito neuronas que disparan de forma tónica durante un periodo de SMOR, las denominadas células SMOR-ON. De tal manera que la activación de los receptores de CRF pudiera estar prolongando la frecuencia de disparo de las células SMOR-ON por más tiempo, lo cual tiene como consecuencia una mayor cantidad de SMOR (García-García et al., 2000).

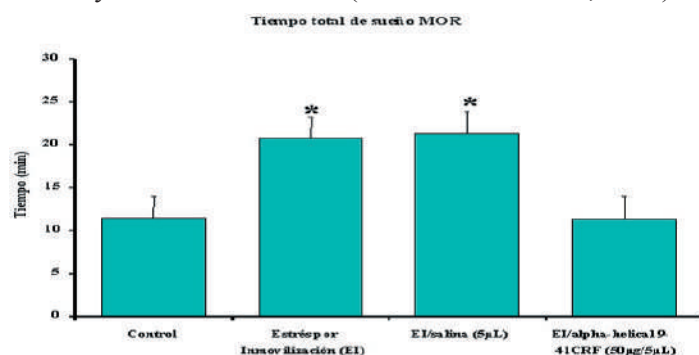


Figura 1. Efecto de la administración intracerebroventricular del antagonista para CRF (9-41) sobre el tiempo total de SMOR. Observe que el rebote de SMOR no se presenta después de dos horas de estrés por inmovilización cuando el antagonista es inyectado previamente. (Tomada de García-García F, 2000.) * $p < 0.01$

Adicionalmente se ha demostrado que durante el estrés por inmovilización ocurre un aumento en la liberación de 5-hidroxitriptamina o serotonina (5-HT) y de sus intermediarios metabólicos (5-hidroxi-indol) en el hipotálamo basal (núcleo arcuato) y áreas circunvecinas.

Se ha mostrado que la 5-HT liberada en el hipotálamo basal proviene de fibras del núcleo del rafe dorsal. La administración de CRF en el núcleo del rafe dorsal incrementa los niveles de 5-HT en el mesencéfalo. Estos resultados sugieren que el CRF pudiera actuar induciendo la liberación de 5-HT en el núcleo dorsal del rafe y éste a su vez actúa en el hipotálamo induciendo la síntesis o liberación de sustancias inductoras de SMOR (el Kafi et al., 1994).

Utilizando estas evidencias, la hipótesis que proponemos sobre la función del sueño establece que las experiencias previas de la vigilia, es decir, todas las actividades o situaciones a las cuales estamos expuestos cuando estamos despiertos, generan una huella de sueño (*somnoprínt*) específica para esa experiencia. La huella de sueño corresponde al efecto que la experiencia tiene sobre la respuesta que el organismo da a ésta, por ejemplo, el estrés induce liberación de CRF y esta sustancia a su vez activa / inhibe regiones cerebrales relacionadas con la regulación del sueño. Por lo tanto, al cambiar la huella de sueño, el patrón de sueño cambiará también ya que éste será influenciado de manera específica por la experiencia previa. Cada patrón de sueño generado tendrá como función restablecer la homeostasis cerebral para exponer al sujeto a la siguiente vigilia (García-García y Drucker-Colín, 1999).

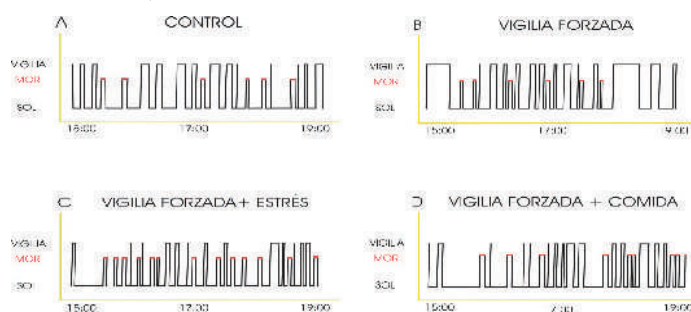


Figura 2. Representación grafica del registro de sueño (hipnograma) de cuatro animales independientes sometidos a diferentes condiciones experimentales durante la vigilia. **A.** Control **B.** Vigilia forzada (VF) por cuatro horas, **C.** VF más estrés por inmovilización, **D.** VF más ingesta de comida. Observe que cada condición genera patrones de sueño particulares. I y II corresponden a las etapas del SOL.

Se ha demostrado que la ingesta de comida por 2 horas induce un patrón de sueño caracterizado por una reducción del tiempo total de vigilia a expensas de un aumento significativo del tiempo total de SOL. El incremento del SOL es consecuencia de un aumento de más de 100% en

la duración promedio de esta fase; pero de forma inversa, la frecuencia de los periodos de SOL se reduce. El tiempo total de SMOR también aumenta como consecuencia de un incremento de la duración promedio. Además, la latencia de aparición al primer periodo de SMOR se reduce significativamente (García-García y Drucker-Colín, 2001). De manera interesante, una experiencia de estrés por inmovilización aumenta la frecuencia del SMOR y no la duración como lo hace la ingesta de comida. El aumento de SMOR es a expensas de una reducción del tiempo total de vigilia y del SOL (Figura 2). Estos resultados sugieren que cada experiencia de la vigilia previa al inicio del sueño afecta de manera diferente y puntual a cada una de las fases del ciclo.

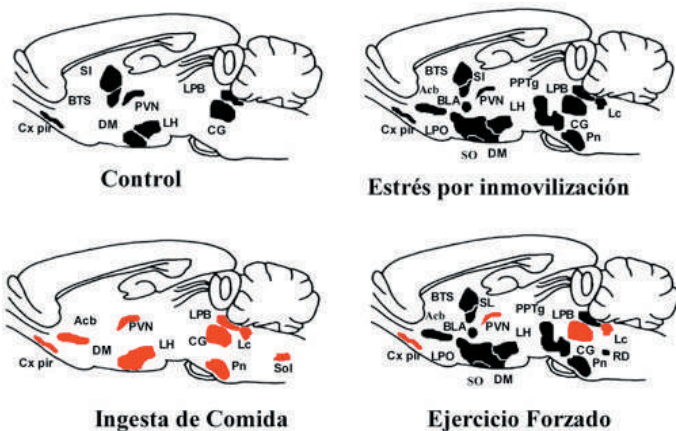


Figura 3. Esquema sagital del cerebro de rata donde se representan las diferentes áreas donde se induce la expresión de la proteína Fos en cuatro condiciones diferentes. Como se puede observar, cada condición induce cambios discretos en ciertas regiones que sólo ocurren por dicha manipulación. La ingesta de comida y el ejercicio forzado son experiencias que incrementan el número de regiones cerebrales que expresan Fos. Las áreas en gris señalan los sitios de alta expresión de la proteína Fos y las áreas en negro lo sitios donde la expresión de Fos fue menor. Acb núcleo accumbens, BLA núcleo basolateral de la amígdala, BTS núcleo basal de la estria terminal, DM núcleo dorsomedial hipotálamico, CG sustancia gris periacueductal, Cx pir corteza piriforme, Lc núcleo locus ceruleus, LH núcleo lateral hipotálamico, LPB núcleo parabraquial lateral, LPO área lateral preóptica, Pn núcleo pontino, PPTg núcleo pedúnculo pontino, PVN núcleo paraventricular, RD núcleo del rafe dorsal, SI sustancia innominata, SO núcleo supraóptico, Sol núcleo del tracto solitario.

Sumado a estos resultados, se ha reportado que la actividad neuronal cuantificada a partir de la expresión de la proteína Fos se modifica en cada experiencia: ingesta de comida, una situación de estrés o un periodo de ejercicio inducen la activación de poblaciones neuronales específicas para cada condición (García-García *et al.*, 1998) (Figura 3). Es decir, las poblaciones neuronales que respondieron al estrés no son las mismas que respondieron al ejercicio

forzado o la ingesta de comida (Figura 3). Cada evento genera un patrón específico de actividad neuronal, ciertas poblaciones neuronales son más activas a un estímulo que a otro. Esta actividad neuronal diferencial sugiere que los núcleos activos pudieran estar sintetizando y liberando sustancias propias relacionadas con su actividad funcional; muchas de estas sustancias (CRF, beta-endorfinas, CCK, por ejemplo) están relacionadas también con la modulación del ciclo vigilia-sueño. Cada una de estas sustancias o factores endógenos liberados como consecuencia de la experiencia ocurrida serían los responsables de actuar ya sea en conjunto o en paralelo con otros mediadores químicos, incluidos neurotransmisores, sobre el mecanismo anatómico responsable de inducir el sueño. Por lo tanto, el patrón de sueño subsiguiente a la experiencia siempre será diferente pues el mecanismo químico modulador que lo inició cambia. El sueño no sólo depende de la duración de la vigilia previa, sino también de la naturaleza de la experiencia ocurrida en ésta.

La razón de estos cambios en el patrón de sueño sería consecuencia de que la actividad de los grupos neuronales del cerebro es dependiente de cada experiencia; es decir, el estado de activación del cerebro no es el mismo para una situación de estrés que de ingesta de comida o de ejercicio forzado.

En resumen, nuestra hipótesis implica que la forma en la cual estructuramos nuestro ciclo de sueño depende de la vigilia previa, de su naturaleza y duración. Por lo tanto, el sueño posterior a cada una de las situaciones expuestas durante la vigilia es diferente, ya que el mecanismo que lo está generando (péptidos, hormonas, neurotransmisores, etc.) depende directamente del evento previo que ocurrió antes de dormir. Esto sugiere la existencia de varios tipos de sueño, posiblemente un sueño post-estrés, post-privación de sueño, post-prandial, post-aprendizaje, post-enfermedad, etc.

En conclusión, podemos sugerir que la forma en que dormimos día con día no tiene por qué ser necesariamente la misma. Cada día nos exponemos a situaciones diversas que de alguna u otra manera tienen un impacto sobre la forma en que dormimos. La estructura del sueño depende en gran medida del evento previo y de qué tan predominante sea éste sobre el resto de las experiencias a las cuales estamos

sometidos día con día.

Ahora sabemos que existe una buena razón para dormir; la cantidad de sueño necesaria día a día depende de cada persona y de sus hábitos. Una tercera parte de nuestra vida dormimos y si no lo hacemos, tenemos como resultado la muerte. El dormir nos ayuda a mantenernos alerta ante todos los estímulos sensoriales, hace que seamos más receptivos a toda la información recibida, mucha de la cual será almacenada cuando vayamos a dormir.

Agradecimientos

Los autores de este capítulo agradecen al M. en N. Arturo Venebra por la edición de las imágenes y al apoyo recibido por el CONACYT 212045 y PROMEP proyecto UVER-PTC-118.

BIBLIOGRAFIA

1. Austin MC, Rhodes JL, Lewis DA. Differential distribution of corticotropin-releasing hormone immunoreactive axons in monoaminergic nuclei of the human brainstem. *Neuropsychopharmacology*. 1997 Nov;17(5):326-41.
2. Bonnet C, Léger L, Baubet V, Debilly G, Cespuglio R. Influence of a 1 h immobilization stress on sleep states and corticotropin-like intermediate lobe peptide (CLIP or ACTH18-39, Ph-ACTH18-39) brain contents in the rat. *Brain Res*. 1997 Mar 14;751(1):54-63.
3. Drucker-Colín R. The function of sleep is to regulate brain excitability in order to satisfy the requirements imposed by waking. *Behav Brain Res*. 1995; 69: 1117-1124.
4. el Kafi B, Cespuglio R, Leger L, Marinesco S, Jouvet M. Is the nucleus raphe dorsalis a target for the peptides possessing hypnogenic properties? *Brain Res*. 1994 Feb 21;637(1-2):211-21.
5. García-García F, Beltran-Parrazal L, Jimenez Anguiano A, Vega Gonzalez A, Drucker-Colín R. Manipulations during forced wakefulness have differential impact on sleep architecture, EEG power spectrum, and Fos induction. *Brain Res. Bull*. 1998; 47: 317-324.
6. García-García F, Drucker-Colín R. Endogenous and exogenous factors on sleep-wake regulation. *Prog Neurobiol*. 1999; 56(4): 297-314.
7. García-García F. La vigilia como regulador del sueño: estudio sobre los péptidos involucrados. Tesis Doctoral. UNAM. 2000, pp 137.
8. García-García F, Drucker-Colín R. Nutritional impact on sleep-wake cycle. En Fernstrom, J.D., Uauy, R. y Arroyo, P. ed.: *Nutrition and Brain*. Karger AG, Basel, Vol. 5, 2001: 189-199.
9. Radulovic J, Sydow S, Spiess J. Characterization of native corticotropin-releasing factor receptor type 1 (CRFR1) in the rat and mouse central nervous system. *J Neurosci Res*. 1998 Nov 15;54(4):507-21.
10. Rampin C, Cespuglio R, Chastrette N, Jouvet M. Immobilisation stress induces a paradoxical sleep rebound in rat. *Neurosci Lett*. 1991 May 27;126(2):113-8.

Autor Responsable:

Dr. Fabio García García

Departamento de Biomedicina, Instituto de Ciencias de la Salud,
Universidad Veracruzana. Av. Luis Castelazo Ayala s/n. Col. Industrial-Animas.
Xalapa Ver., México. C.P. 91190.
Teléfono: (228) 8418925
Email: fgarcia@uv.mx



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Neurophysiological meaning of the similarities between sleep spindles, k-complexes, and anesthesia bursts

Significado neurofisiológico de las similitudes entre los husos de sueño, complejos-k y las descargas fásicas durante anestesia

Manuel J. Rojas^{1,2}, Jinna A. Navas, David M. Rector²

¹Universidad Nacional de Colombia.

²Washington State University, Pullman, Washington.

Rojas MJ, Navas JA, Rector DM.

Neurophysiological meaning of the similarities between sleep spindles, k-complexes, and anesthesia bursts

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 68-70.

ABSTRACT

Sleep and general anesthesia have been described as distinct states. However, several studies have found common neural circuitries, and shared mechanisms between these two states. Sleep spindles and κ -complexes can be evoked by external stimulation during NREM sleep. We recorded cortical burst activity synchronized to auditory external stimulation in isoflurane-anesthetized rats. We hypothesize that sleep spindles, κ -complexes, and bursts evoked by external stimulation might have a common neuronal generator and perhaps similar neurophysiological meaning.

Key words: Auditory processing, gas anesthesia, burst suppression.

RESUMEN

El Sueño y la anestesia general han sido descritos como estados diferentes. Sin embargo, varios estudios han encontrado circuitos neurales comunes y mecanismos compartidos entre estos dos

estados. Los usos de sueño y los complejos- κ pueden ser evocados por estimulación externa durante sueño tranquilo. Nosotros registramos descargas fásicas de alta amplitud sincronizadas con estimulación auditiva externa en ratas anestesiadas con isoflurano. Nuestra hipótesis es que los husos de sueño, los complejos- κ y las descargas fásicas de alta amplitud evocadas con estimulación externa podrían tener un generador neuronal común y quizá un significado neurofisiológico similar.

Texto

Several studies have found physiological differences between natural sleep and anesthesia¹. Unconsciousness being readily reversible during sleep, but irreversible under anesthesia makes these states distinct². Also, somatosensory evoked potentials (SEP) recorded over the skull show specific shape and differential temporal patterns during sleep and anesthesia³. However, recent findings suggest that brain nuclei involved in sleep control are quite important

in anesthesia mechanisms. It is likely that some neural networks used to keeping us awake are necessary to wake us up from anesthesia. Additionally, anesthetics can cause sleep with direct administration into brain nuclei known to regulate sleep, and endogenous neuromodulators known to regulate sleep also alter anesthetic action². Studies have shown experimental evidence of a relationship between the degree of prior sleep deprivation and the anesthesia potency, and also about the dissipative effect of anesthesia on sleep debt⁴. All these findings highlight more similarities between sleep and anesthesia than earlier investigation have considered.

The electroencephalogram (EEG) shows characteristic temporal patterns under different anesthetic conditions. A burst suppression pattern appears during deep isoflurane anesthesia, where high amplitude bursts are followed by periods of nearly silent (EEG)⁵.

Spindle oscillations ranging between 12 to 14 Hz recur periodically in the thalamus and cortex during sleep^{6,7}. The hyperpolarization of thalamocortical neurons caused by the recurrent inhibitory circuit in the reticular thalamus induces spindles over most of the cortex⁸. Sleep spindles might be the electrical result of inhibitory neuronal firing gating synaptic transmission through the thalamus to avoid sleep disruption⁷. K-complex is a negative-positive complex with a latency ranging from 100 to 250 ms post-stimulus, which can be recorded from the human scalp in response to various external stimuli. In humans, k-complexes occur in stages 2, 3 and 4 of nrem sleep⁹.

We found spontaneous and stimulus-evoked bursts during deep isoflurane anesthesia in rats. The burst activity during anesthesia contains waves of high amplitude and a predominant 10 Hz frequency (Fig. 1). The burst activity shares at least two important characteristics with sleep spindles and k-complexes: it can be evoked by external stimulation during unconsciousness states, and has a predominant 10 Hz frequency waves. Since the brain retains the ability to respond to external stimuli during deep anesthesia, in a form of bursts, we hypothesize that there is a common neuronal generator and perhaps similar neurophysiological meaning for sleep spindles, k-complexes, and anesthesia bursts. If so, burst activity during deep anesthesia might be a potential experimental

model to study somatosensory processing during sleep.

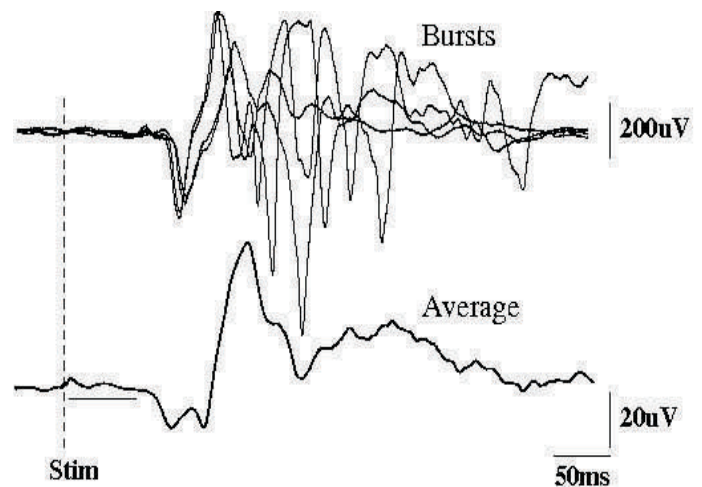


Figure 1. Burst shape. The superimposed traces in the top panel show examples of bursts at 2% [isof]. The bottom trace is the average of evoked burst responses (n=552) at 2% [isof]. During anesthetized conditions a high-amplitude response appears 250 ms after the auditory stimulus. The appearance of individual bursts resembles the shape of a sleep spindle, while the average of multiple bursts looks like a K-complex.

BIBLIOGRAFÍA

1. Harrison NL. General anesthesia research: aroused from a deep sleep?. *Nature neuroscience*. 2002;5(10): 928-929.
2. Allada R. An emerging link between general anesthesia and sleep. *PNAS* 2008; 105(7): 2257–2258.
3. Rojas MJ, Navas JA, Rector DM. Evoked Response Potential Markers for Anesthetic and Behavioral States. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006; 291(1): R189-96..
4. Tung A, Mendelson WB. Anesthesia and sleep. *Sleep Medicine Reviews* 2004; 8: 213–225.
5. Hartikainen K, Rorarius MG. Cortical responses to auditory stimuli during isoflurane burst suppression anaesthesia. *Anaesthesia*. 1999; 54(3): 210-4.
6. Contreras D, Destexhe A, Sejnowski TJ, Steriade M. Spatiotemporal patterns of spindle oscillations in cortex and thalamus. 1997; 17(3): 1179-96.
7. Cote KA, Epps TM, Campbell KB. The role of the spindle in human information processing of high-intensity stimuli during sleep. *J. Sleep Res.* 2000; 9: 19-26.
8. Steriade M, Amzica F. Sleep oscillations developing

into seizures in corticothalamic systems. Epilepsia.
2003; 44 Suppl 12:9-20.

9. Niiyama Y, Satoh N, Kutsuzawa O,
Hishikawa Y. Electrophysiological evidence

suggesting that sensory stimuli of unknown
origin induce spontaneous K-complexes.
*Electroencephalography and clinical
Neurophysiology.* 1996; 98: 394-400.

Autor Responsable:

Manuel J. Rojas

e-mail: marojasba@unal.edu.co

Teléfono: (57)316-334-6878

Dirección postal:

Universidad Nacional de Colombia

Departamento de Ciencias para la Salud Animal

Ciudad Universitaria. Bogota. Colombia



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Restauración neuronal o plasticidad sináptica a lo largo del ciclo sueño-vigilia

Neuronal restoration or synaptic plasticity along the sleep-waking cycle

Corinne J. Montes Rodríguez, Eunice A. Domínguez Martín, Oscar Próspero García

Grupo de Neurociencias, Depto. de Fisiología, Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma de México, D. F., México.

Montes-Rodríguez CJ, Domínguez-Martín EA, Próspero-García O.

Restauración neuronal o plasticidad sináptica a lo largo del ciclo sueño-vigilia

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 71-77.

RESUMEN

La privación de sueño deteriora procesos cognoscitivos como la atención, el aprendizaje y la memoria. Además, si dicha privación se prolonga, el resultado final es la muerte de los organismos. Con base en los efectos de la privación de sueño, se han propuesto diversas teorías acerca de la función del sueño. El objetivo de esta mini-revisión es discutir dos funciones sugeridas para el sueño: la restauración neuronal y la plasticidad sináptica. En el primer apartado discutimos varias hipótesis sobre la restauración neuronal, así como sus respectivos datos experimentales. En el segundo apartado discutimos las teorías y los datos que proponen al sueño como un estado que facilita fenómenos de plasticidad sináptica. En conclusión, creemos que la restauración neuronal no es una función del sueño. Suponemos que durante el sueño se reprocesa la información obtenida en la vigilia para su almacenamiento o su categorización. Esto resultaría en un funcionamiento cerebral óptimo, basado en el número adecuado de neuronas y sinapsis. Por lo tanto, creemos que la función del sueño es la reorganización de los circuitos neuronales.

Palabras clave. Función del sueño, restauración neuronal, plasticidad sináptica.

El sueño es un estado presente a lo largo de la vida de todos los mamíferos. Por ejemplo, un cálculo grueso sugiere que el humano ocupa una tercera parte de su vida en dormir. Además, sabemos que si una noche no dormimos, durante la vigilia del día siguiente tendremos un grado alto de incompetencia. Estaremos somnolientos, no atenderemos bien a los diferentes estímulos y nuestra capacidad para retener información estará disminuida. Lo que es fascinante es que estos síntomas desaparecen después de dormir el tiempo adecuado. Existen diversas teorías acerca de las funciones del sueño; en esta mini-revisión discutiremos dos de ellas. En el primer apartado discutiremos la relación entre la restauración celular y el sueño; en el segundo, la relación entre la plasticidad sináptica y el sueño.

Efectos de la privación de sueño

La privación de sueño (ps) total en ratas provoca su muerte en un periodo de tres semanas aproximadamente, presentando un deterioro en la apariencia física, ulceraciones en la piel, en la cola y en las patas; alteraciones en la coordinación motora y postural (ataxia); aumento en la ingestión de

alimento acompañada de una pérdida de peso considerable e incremento en la energía gastada¹. La ps aguda deteriora la integridad de los procesos cognoscitivos, como atención, aprendizaje y memoria. Este deterioro se acompaña de un cambio en la actividad metabólica cerebral². Además, los efectos observados por la ps se pueden revertir o evitar al dormir. Con base en estos datos, desprendemos dos nociones: 1) el sueño es vital; 2) el funcionamiento del cerebro es la primera función afectada por la ps.

Restauración neuronal

Dados los efectos negativos de la ps, se ha propuesto que el sueño *restaura* o *restituye* a las células del organismo del desgaste ocurrido durante la vigilia. *Restauración* se refiere al re-abastecimiento o re-ajuste de los elementos necesarios para el adecuado funcionamiento celular. Y puesto que la ps deteriora primeramente a los procesos cognoscitivos, se ha sugerido que la restauración debe ser principalmente neuronal. En este contexto, se han planteado diversas hipótesis sobre la función del sueño: remover a los radicales libres generados en el cerebro durante la vigilia, protegiendo del daño por estrés oxidante a los circuitos corticales excitadores^{3,4}; el reabastecimiento del almacén de glucógeno cerebral⁵; restituir y desintoxicar a las neuronas⁶, re-distribuir los elementos necesarios para el adecuado funcionamiento neuronal, por ejemplo el glutamato debe vesicularse⁷. Como podemos observar, todas las hipótesis plantean en términos generales que es durante el sueño cuando las neuronas se *restauran* mediante diversos mecanismos. Algunos autores proponen que el sueño protege a las neuronas del estrés oxidante generado en la vigilia para evitar muerte neuronal. De acuerdo con este razonamiento, la ps debe afectar la viabilidad celular.

Privación de sueño, muerte celular y estrés oxidante

La ps total hasta por 14 días y la privación selectiva de sueño de movimientos oculares rápidos (PSMOR) por 96 hrs no matan a las células en el cerebro adulto de ratas^{8,9}. La ps crónica no induce daños estructurales gruesos, ni en los microtúbulos del cerebro de ratas (revisado en¹). Eiland y cols., (2002) observaron daño celular sólo en el núcleo supraóptico de ratas privadas de sueño total, en forma crónica¹⁰. De hecho, sólo un trabajo ha mostrado que la

PSMOR por 6 días promueve apoptosis en el núcleo preóptico medial; en el núcleo *locus coeruleus*, en el núcleo pontino tegmental y laterodorsal de ratas¹¹.

Diversos experimentos han explorado el efecto de la privación de sueño sobre el estrés oxidante en el cerebro y han mostrado que los cambios ocurren de forma estructural-específicos. La PSMOR por 96 hrs en ratas disminuye los niveles de glutatión en el hipotálamo y en el tálamo¹²; aumenta la peroxidación de lípidos en el hipocampo, tálamo e hipotálamo y la disminuye en la corteza y el puente cerebral¹³. La ps total por 5-11 días disminuye los niveles de superóxido dismutasa en el hipocampo y el tallo cerebral de ratas¹⁴. En la corteza cerebral no se observa estrés oxidante por la ps crónica en ratas¹⁵.

Con base en estos datos, podemos decir que la ausencia de sueño promueve estrés oxidante en el hipotálamo, el hipocampo y el tálamo de ratas. Sin embargo, esto no se refleja en la presencia de muerte celular por efecto de la ps. El hipotálamo es más susceptible al estrés oxidante que las otras estructuras, ya que la PS provoca daño celular en el núcleo supraóptico y apoptosis en el núcleo preóptico medial^{10,11}. Sin embargo, es la excepción más que la regla; la mayoría de los estudios sobre muerte celular en el cerebro después de diferentes periodos de ps han fallado en sustentar dicha muerte. En este sentido, en nuestro laboratorio hemos evaluado la apoptosis espontánea en el cerebro de la rata a lo largo del ciclo luz-oscuridad, que como sabemos está asociado con el ciclo sueño-vigilia. Pensamos que si es cierto que el sueño protege a las neuronas, entonces debería observarse una reducción de la apoptosis espontánea en el cerebro durante la fase de luz, que es cuando la rata duerme. Como era de esperarse, encontramos pocas células en proceso de muerte; y aunque observamos una tendencia al aumento de apoptosis durante la oscuridad en núcleos involucrados en la vigilia, los valores no fueron significativamente diferentes, por lo que concluimos que no hay variaciones diurnas (fig. 1). Esto quiere decir que la muerte de una neurona acaece en cualquier momento del día, sin que haya algún factor (por ejemplo, promovido por el sueño) que la proteja.

Los datos aquí discutidos indican entonces que facilitar la viabilidad celular no es una función del sueño. Además, el cerebro es capaz de neutralizar el estrés oxidante

provocado por la PS y evitar la muerte de las neuronas (al menos en la corteza cerebral, el hipocampo y el tálamo). De hecho, se ha mostrado que la PS aguda promueve la síntesis de moléculas que facilitan la sobrevivencia celular y la plasticidad sináptica. Por ejemplo, la PS total por 6 y 8 hrs. aumenta la concentración de NGF y BDNF, respectivamente, en la corteza cerebral de ratas^{16, 17}.

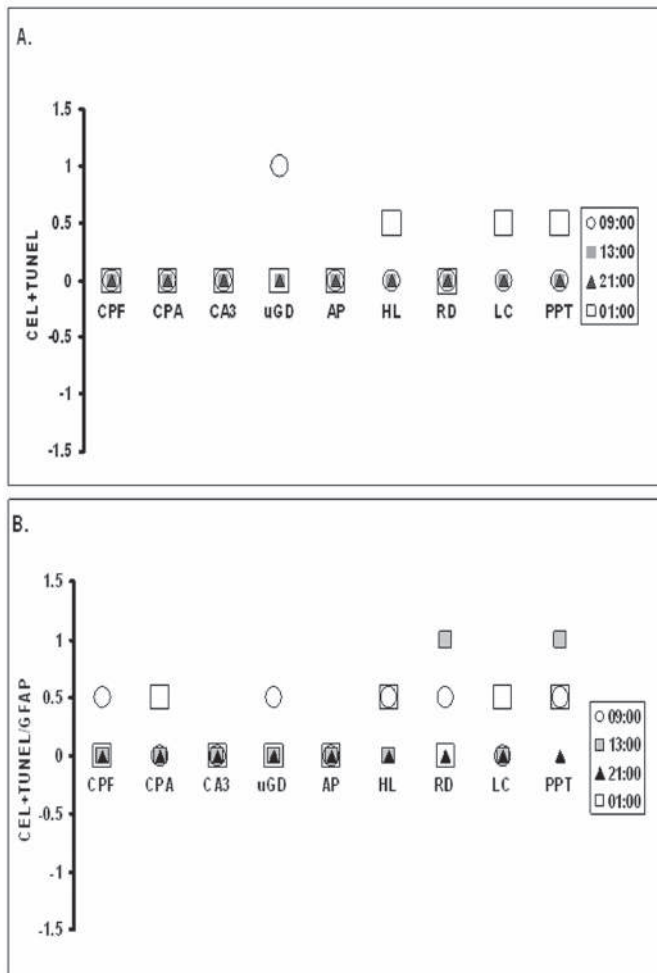


Figura 1. Muerte celular espontánea en el cerebro de la rata en 4 puntos del ciclo luz-oscuridad. A. Células positivas a TUNEL, presumiblemente neuronas. B. Astrocitos positivos a TUNEL. CPF, corteza prefrontal; CPA, corteza parietal; CA3, UGD, unión del giro dentado; HL, hipotálamo latera; RD, rafe dorsal; LC, locus coeruleus; PPT, núcleo pontino tegmental.

La PS total por 24 hrs. aumenta las células inmunorreactivas a Bcl-2 en el hipocampo de ratas (ver figura 2). Otros ejemplos de los mecanismos protectores que se activan durante la PS son la disminución del estrés oxidante por la PSMOR por 72 hrs.¹³ y la inhibición de la apoptosis inducida por TNF-alfa y VIHgp120 después de 24 hrs. de PS total¹⁸; ambos efectos fueron observados en la corteza

cerebral de ratas. Estas evidencias apoyan fuertemente a la corteza cerebral y al hipocampo como estructuras que activan un sistema de “protección celular” ante la PS; lo cual sugiere la enorme importancia de mantener funcional y estructuralmente intactas estas estructuras.

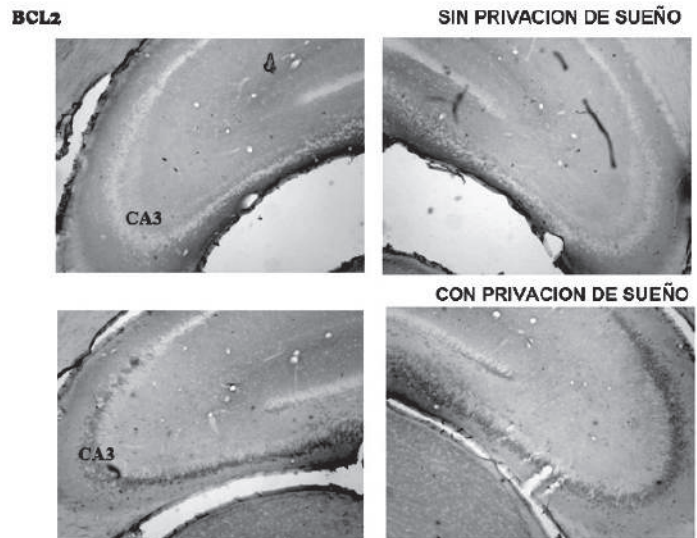


Figura 2. La PS total por 24 horas aumenta la inmunorreactividad a Bcl-2 en el área de CA3 del hipocampo de ratas.

Plasticidad sináptica

Como mencionamos antes, los primeros efectos de la PS se observan sobre la integridad de los procesos cognoscitivos. Al igual que con la restauración celular, los efectos negativos de la PS sobre el aprendizaje y la memoria llevaron a pensar que la función del sueño es facilitar procesos de plasticidad sináptica. La plasticidad sináptica se refiere a cambios en la fuerza de la sinapsis. Por ejemplo, un aumento en la liberación del neurotransmisor y la expresión de receptores ionotrópicos y metabotrópicos, entre otras variaciones. Tales cambios ocurren por la “experiencia”; es decir, por la exposición a eventos que provocan una demanda funcional extraordinaria al sistema cerebral. Este tipo de cambios a largo plazo son cruciales para la adquisición y el almacenamiento permanente de la información¹⁹. En este apartado revisaremos algunas propuestas teóricas sobre la relación entre plasticidad sináptica y sueño.

MV Ambrosini y A Giuditta(1988) proponen la teoría secuencial del sueño²⁰. Asumen que la información adquirida durante el periodo de vigilia es procesada durante el sueño, por lo que la estructura del mismo dependerá de las

experiencias de la vigilia previa. Para dicho procesamiento se necesita la integridad del ciclo sueño no MOR-MOR²⁰. R Drucker-Colín (1995) acuña el término *somnoprint* para indicar que la arquitectura particular del sueño de cada noche refleja las experiencias vividas durante la vigilia previa, por lo que cada noche tenemos una arquitectura del sueño diferente²¹. JM Krueger y col. (1995) proponen la teoría de los grupos neuronales y sugieren que el sueño resulta del uso y mantenimiento de las sinapsis que fueron insuficientemente estimuladas durante la vigilia. La función del sueño sería preservar una constancia en la superestructura sináptica, por lo que la ocurrencia del sueño es dependiente del uso sináptico²². Esto último está basado en el darwinismo neuronal propuesto por Edelman (2003)²³, en donde se asume que las redes neuronales son circuitos generados epigenéticamente. El establecimiento y mantenimiento de tales redes depende del uso de las sinapsis. Entre más estimulada esté una sinapsis (re-entrada) es más probable que se mantenga funcional. Por el contrario, entre menos estimulación reciba, es más probable que deje de funcionar y desaparezca. Así, las sinapsis que perduren serán las más aptas para contender con la interacción cerebro-ambiente. En este mismo sentido, G Tononi y C Cirelli (2003) postulan que la disminución y sincronización de la actividad de la corteza cerebral que se presenta en el sueño no MOR permite una reducción en la cantidad de sinapsis. De esta forma, la función del sueño sería conservar una “homeostasis sináptica”. Durante el sueño no MOR se eliminaría a las sinapsis que fueron poco estimuladas en la vigilia por medio del desescalamiento sináptico (*downscaling*)²⁴. F Crick y G Mitchison hicieron una propuesta teórica desde 1983 sugiriendo que la función del sueño MOR es remover a las sinapsis indeseables de la corteza cerebral. Es decir, de alguna forma limpiar al cerebro. Esto significa que dormimos para olvidar, y durante el sueño nos deshacemos de la “basura cognitiva”. Ellos proponen que durante el sueño MOR ocurre un aprendizaje reverso que consiste en debilitar a las sinapsis. El objetivo es evitar una saturación en la red sináptica, asociaciones bizarras o respuestas erróneas por una mal interpretación de la entrada o de la salida²⁵. En términos generales, las teorías suponen que durante el sueño ocurre una reorganización de las redes neuronales (para una discusión más amplia del

tema, ver Montes-Rodríguez CJ y col., 2006)²⁶.

Plasticidad sináptica y sueño

Existen varias líneas de investigación que indican una clara relación entre el sueño y la plasticidad sináptica; revisemos las que a nuestro juicio son más importantes.

La ps deteriora procesos plásticos así como la formación del aprendizaje y/o la evocación de la memoria. La ps deteriora tareas dependientes de la integridad del hipocampo^{27,28} y de la corteza prefrontal². La PSMOR por 72 hrs. disminuye la excitabilidad celular de CA1 e inhibe la generación de potenciación a largo plazo (LTP) en CA1 y en el giro dentado²⁷. La fragmentación del sueño por 24 y 72 h inhibe la generación de LTP en CA1²⁸.

*La psy el sueño modifican la expresión de moléculas que facilitan la plasticidad sináptica*¹⁷. Ver tablas 1 y 2.

Tabla 1. Variación en la expresión de moléculas que facilitan plasticidad sináptica después de diferentes manipulaciones del ciclo sueño-vigilia.

Autor y año	Tiempo/ tipo	Molécula	Estructura	V*
Neuner-Jehle, M <i>et al.</i> 1995.	ps total 24hrs	mRNA de neurogranina	SFMA (del ingles subcortical forebrain plus midbrain areas) excepto en hipocampo y bulbo olfatorio	-
		Neurogranina	corteza	-
Neuner-Jehle M, <i>et al.</i> 1996.	PS total 24hrs	mRNA y proteína dendrina	SFMA	-
Sei H, <i>et al</i> 2000.	PSMOR 6hrs	NGF	hipocampo	-
		BDNF	Tallo y cerebelo	-
Guzmán-Marín R. <i>et al.</i> 2006.	PS total 8hrs	mRNA de BDNF, CREB, CAMKII, sinapsina	hipocampo	-
Taishi P, <i>et al.</i> 2000	PS total 8hrs	mRNA de: BDNF, Arc	corteza cerebral	+
		mRNA MMP-9	corteza cerebral	-
		mRNA Arc	hipocampo	+
		mRNA MMP-9	hipocampo	-
Cirelli C. y Tononi G. 1999, Cirelli C. 2002.	PS total 3 y 8hrs	Arc, c-Fos, NGFI-A	corteza cerebral	+
	PS total 3 y 8hrs; vigilia	Subunidades del receptor AMPA	corteza cerebral	+
	8hrs	Transportador de glucosa Glut1	corteza cerebral	+
Moussard C, <i>et al.</i> 1994.	PSMOR 5 y 10 días	Prostaglandina E2 (PGE2)/ PGD2.	hipotálamo hipocampo	+
Guzmán-Marín R. <i>et al.</i> 2006	PS total 48hrs	mRNA de BDNF, CREB, CAMKII, sinapsina	hipocampo	-

* Variación: (+) si aumenta la expresión de la molécula, (-) si disminuye la expresión.

Tabla2. Transcritos involucrados en plasticidad y mantenimiento celular que aumentan su expresión en la corteza cerebral de ratas sacrificadas inmediatamente después de un periodo de 8 hrs. en el que habían estado predominantemente dormidas.

Autor y año.	Transcripto	Función
Cirelli C. y Tononi G. 2000 Cirelli C. <i>et al.</i> 2004. Cirelli C. 2005	CAMKIV (proteína cinasa dependiente de calcio IV)	Envuelta en consolidación de la memoria a largo plazo, y depresión sináptica
	Calcineurina, proteína 12 de unión a FK506, Receptor a inositol 1,4,5 trifosfato, y anafisina II, Proteína ζ interactuante con Proteína cinasa C (ZIP), <i>NCS-1</i> , <i>Dpp6</i> , <i>Ash/GRB2</i> , subunidad reguladora de la fosfatidil 3-cinasa p55.	Involucradas en depresión sináptica y depotenciación.
	Genes oligodendrocíticos codificantes para proteínas estructurales de mielina: MOBP, MAG, plasmolipina, CD9.	Síntesis/mantenimiento de membranas.
	Proteína 2 de unión al factor de crecimiento parecido a insulina.	Receptor asociado a mielina.
	Glutatión S-transferasa.	Asociada a mielina.
	Tiolasa, 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A sintetasa, escualeno sintetasa, lanosterol 14 alfa demetilasa.	Codificantes para síntesis y transporte de colesterol (constituyente de membranas).
	Transcetolasa.	Vía de las pentosas (síntesis de ácidos grasos y colesterol).

El aprendizaje modifica el patrón de sueño subsiguiente. Una rata que durante la vigilia aprendió a evitar un choque eléctrico, al dormir presenta episodios de ondas lentas más largos que una rata que sólo estuvo en su jaula durante la vigilia²⁰. El aprendizaje de una tarea de prevención pasiva en ratas incrementa la cantidad de sueño MOR, la frecuencia y la duración de las transiciones NOMOR-MOR y la cantidad de ondas pontinas (P), las cuales son registradas mediante un electrodo de campo colocado en el puente cerebral (son las ondas PGO de la rata). El aumento de las ondas P correlaciona con la consolidación de la tarea²⁹. En humanos se ha observado que una tarea viso-motora modifica la actividad de la corteza parietal durante el sueño de ondas lentas e incrementa la potencia de éstas³⁰.

Durante el sueño ocurre un reprocesamiento de la información adquirida durante la vigilia. El patrón de disparo de células de lugar en una rata que resuelve un laberinto circular durante la vigilia es similar al patrón de actividad que presentan las mismas células cuando la rata duerme en sueño MOR³¹, presumiblemente la reactivación del hipocampo durante el sueño tiene como objetivo almacenar

la información a largo plazo en la corteza cerebral³².

El sueño y la calidad del dormir son eventos necesarios para una adecuada plasticidad sináptica. Sin embargo, experimentos que evalúan la inducción de LTP como indicador de plasticidad sináptica y excitabilidad celular han mostrado que la LTP es suprimida durante el sueño de ondas lentas, con respecto al sueño MOR y a la vigilia³³. Además, durante la vigilia espontánea (por al menos 75% de las primeras 6 horas de oscuridad) se presentan niveles altos de moléculas promotoras de plasticidad sináptica en el hipocampo y en la corteza cerebral de ratas, mientras en el sueño (al menos 75% de las primeras 6 horas de luz) dichos niveles disminuyen³⁴. Estos datos indican que durante la vigilia, el hipocampo y la corteza cerebral presentan condiciones celulares idóneas para la generación de procesos plásticos. Sin embargo, el paso de información a nivel del hipocampo es más selectivo durante la vigilia³⁵ cuando el sujeto está interactuando en forma activa con el ambiente. Esto último fue sugerido por J Winson & G Abzug (1977) al mostrar que la entrada de información en el hipocampo de ratas está facilitada durante el sueño no MOR y está reducida en la vigilia y el sueño MOR³⁵.

La excitabilidad celular y la plasticidad sináptica están facilitadas durante la vigilia (al menos en la corteza cerebral y el hipocampo), pero el sueño es importante para el almacenamiento adecuado de la información adquirida. De acuerdo con estos datos, las actividades de la vigilia de un sujeto se reflejan en la actividad cerebral exhibida durante el sueño; esto sustenta la hipótesis de los *somnoprints* de Drucker-Colín (1995)²¹.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados aquí discutidos, interpretamos que la restauración neuronal debe ocurrir en el sueño, pero también en la vigilia. Aunque la PS promueve estrés oxidante en algunas estructuras cerebrales, el sistema neuronal se protege de morir, ya que los datos sobre la inducción de apoptosis por la PS no son concluyentes. Si partimos de que una célula monoaminérgica dispara 5 veces en 1 seg. y dispara 22 horas al día, considerando que durante el sueño MOR no dispara, esto quiere decir que disparará 7.227×10^9 veces en 50 años. ¡No queda duda de que esta célula requiere mantenimiento! Al parecer, este mantenimiento debe ser

constante y no ocurre exclusivamente durante el sueño o la vigilia. Imaginemos una célula que debe esperar a que el sujeto duerma para recuperarse; sería extremadamente arriesgado para la célula y consecuentemente para el cerebro. Una función celular adecuada es una condición inicial en la formación de una organización neuronal adecuada, pero no tiene una participación determinante en la formación de las sinapsis necesarias para que un organismo pueda desplegar las conductas indispensables para su sobrevivencia. La facilitación de la plasticidad sináptica como función del sueño se debe abordar en el nivel de la formación de redes neuronales.

Durante la vigilia, el sistema cerebral está facilitado para aprender la información del medio externo; durante el sueño, la actividad global del sistema cambia para procesar y ordenar adecuadamente dicha información. En este sentido, la función del sueño es la re-organización de las redes neuronales²⁶. Creemos que el cerebro genera este estado al cual llamamos sueño por que es el momento en que recupera su funcionamiento mediante procesos de plasticidad sináptica; esto finalmente se reflejará en una adecuada interacción cerebro-ambiente. Si no dormimos, nuestras habilidades cognitivas se verán alteradas al día siguiente, nuestra capacidad adaptativa se compromete. El mal funcionamiento del cerebro es la paga por la ausencia del descanso nocturno. Este mal funcionamiento se refleja en la gran cantidad de accidentes automovilísticos que ocurren a diario en el mundo y cobran tantas vidas que se han asegurado el tercer lugar de causas de muerte, después de accidentes cardiovasculares y cáncer (OMS).

Agradecimientos

CJMR agradece la beca para estudios de postgrado otorgada por CONACYT, con no. de becario 176684.

Este trabajo fue hecho con el apoyo del Donativo IN230503 de DGAPA-UNAM otorgado a OPG.

BIBLIOGRAFIA

1. Rechtschaffen A, Bergmann BM. Sleep Deprivation in the Rat: An update of the 1989 Paper. *Sleep* 2002; 25:18-24.
2. Drummond SP, Brown GG. The effects of total sleep deprivation on cerebral responses to cognitive performance. *Neuropsychopharmacology* 2001; 25:S68-73.
3. Reimund E. The free radical flux theory of sleep. *Med Hypotheses* 1994; 43: 231-3.
4. Schulze G. Sleep protects excitatory cortical circuits against oxidative damage. *Med Hypotheses* 2004; 63:203-7.
5. Benington JH, Heller HC. Restoration of brain energy metabolism as the function of sleep. *Prog Neurobiol* 1995; 45:347-70.
6. Inoué S, Honda K, Komoda Y. Sleep as neuronal detoxification and restitution. *Behav. Brain Res* 1995; 69:91- 6.
7. Gally JA, Edelman GM. Neural reapportionment: an hypothesis to account for the function of sleep. *C R Biol* 2004; 327:721-7.
8. Cirelli C, Shaw PJ, Rechtschaffen A, Tononi G. No evidence of brain cell degeneration after long-term sleep deprivation in rats. *Brain Res* 1999; 840:184-93.
9. Hipólido DC y col. Sleep deprivation does not affect indices of necrosis or apoptosis in rat brain. *Int J Neurosci* 2002; 112:155-66.
10. Eiland MM y col. Increases in amino-cupric-silver staining of the supraoptic nucleus after sleep deprivation. *Brain Res* 2002; 945:1-8.
11. Biswas S, Mishra P, Mallick BN. Increased apoptosis in rat brain after rapid eye movement sleep loss. *Neuroscience* 2006; 142:315-31.
12. D'Almeida V y col. Sleep deprivation induces brain region-specific decreases in glutathione levels. *Neuroreport* 1998; 9:2853-6.
13. Singh R, Kiloung J, Singh S, Sharma D. Effect of paradoxical sleep deprivation on oxidative stress parameter in brain regions of adult and old rats. *Biogerontology* 2008.
14. Ramanathan L, Gulyani S, Nienhuis R, Siegel JM. Sleep deprivation decreases superoxide dismutase activity in rat hippocampus and brainstem. *Neuroreport* 2002; 13: 1387-90.
15. Gopalakrishnan A, Ji LL, Cirelli C. Sleep deprivation and cellular response to oxidative stress. *Sleep* 2004; 27:27-35.

16. Brandt J y col. Sleep deprivation but not a whisker trim increases nerve growth factor within barrel cortical neurons. *Brain Res* 2001; 898: 105-12.
17. Cirelli C. Cellular consequences of sleep deprivation in the brain. *Sleep Med Rev* 2006; 10:307-21.
18. Montes-Rodríguez y col. Prolonged waking reduces human immunodeficiency virus glycoprotein 120- or tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in the cerebral cortex of rats. *Neurosci. Lett* 2004; 360:133-6.
19. Bear MF. A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:13453-9.
20. Ambrosini MV y col. The sequential hypothesis on sleep function. I. Evidence that the structure of sleep depends on the nature of the previous waking experience. *Physiol Behav* 1988; 43:325-37.
21. Drucker-Colin R. The function of sleep is to regulate brain excitability in order to satisfy the requirements imposed by waking. *Behav Brain Res* 1995; 69:117-24.
22. Krueger JM, Obál F, Kapás L, Fang J. Brain organization and sleep function. *Behav Brain Res* 1995; 69:177-85.
23. Edelman GM. Naturalizing consciousness: a theoretical framework. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:5520-4.
24. Tononi G, Cirelli C. Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Brain Res Bull* 2003; 62:143-50.
25. Crick F, Mitchison G. The function of dream sleep. *Nature* 1983; 302:111-4.
26. Montes-Rodríguez CJ y col. De la restauración neuronal a la reorganización de los circuitos cerebrales. *Rev Neurol* 2006; 43:409-15.
27. McDermott CM y col. Sleep deprivation causes behavioral, synaptic and membrane excitability alterations in hippocampal neurons. *J Neurosci* 2003; 23:9687-95.
28. Tartar JL y col. Hippocampal synaptic plasticity and spatial learning are impaired in a rat model of sleep fragmentation. *Eur J Neurosci* 2006; 23:2739-48.
29. Datta S. Avoidance task training potentiates phasic pontine-wave density in the rat: A mechanism for sleep-dependent plasticity. *J Neurosci.* 2000; 20:8607-13
30. Huber R, Ghilardi MF, Massimini M, Tononi G. Local sleep and learning. *Nature* 2004; 430:78-81.
31. Wilson MA & McNaughton BL. Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 1994; 265:676-9.
32. Hoffman KL y col. The upshot of up states in the neocortex: from slow oscillations to memory formation. *J Neurosci* 2007; 27:11838-41
33. Leonard BJ, McNaughton BL, Barnes CA. Suppression of hippocampal synaptic plasticity during slow-wave sleep. *Brain Res* 1987; 425:174-7.
34. Vyazovskiy VV y col. Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nat Neurosci* 2008; 11:200-8.
35. Winson J, Abzug C. Gating of neuronal transmission in the hippocampus: efficacy of transmission varies with behavioral state. *Science* 1977; 196:1223-5

Autor responsable:

Dr. Oscar Prospéro-García

Grupo de Neurociencias, Depto. de Fisiología, Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

Apdo. Postal 70-250

México, D.F., 04510

MEXICO

Teléfono: (+52 55) 5623-2509;

Fax: (+52 55) 5623 - 2395

e-mail: opg@sevidor.unam.mx



LA FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL SUEÑO

Los sueños: Cuando los dioses se comunican con los hombres. Psicobiología de las ensoñaciones

Eric Murillo Rodríguez

Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Campeche

Campeche, Campeche. México

Murillo-Rodríguez E.

Los sueños: Cuando los dioses se comunican con los hombres

Psicobiología de las ensoñaciones

Rev Med UV 2008; Sup 2 8(1): 78-81.

RESUMEN

El diccionario de la Real Academia de la Lengua define la palabra “sueño” como el acto de dormir, así como las representaciones de sucesos, imágenes y sonidos mientras uno duerme. Desde tiempos ancestrales, el hombre se ha maravillado por la existencia de los sueños o ensoñaciones; además, ha buscado el significado y sentido de aquello que sueña. De tal modo, se sabe de la existencia a través de la historia de brujos o chamanes que argumentaban ser interpretes de los sueños. Sin embargo, también existen evidencias de intentos más serios sobre trabajos que explicaban los sueños. En el siglo II, Artemidoro de Daldis fue el primero en estructurar diversas ideas sobre el sueño plasmándolas en su obra *Onirocrítica*. Debido a que personajes como Lutero consideraban que los sueños eran mensajes del infierno, los interpretes de sueños fueron objeto de persecuciones y esto se agravó durante la Edad Media ya que muchos de estos perseguidos eran condenados a la muerte. Por fortuna, en tiempos más modernos, para personajes como Descartes, el sueño era un portador de mensajes positivos pues el mismo había señalado que su obra *Discurso del Método* había sido concebida durante un sueño. La

obra más representativa en el tema es *La interpretación de los sueños* de Sigmund Freud, publicada en 1900. A pesar de retomar algunos aspectos que Artemidoro planteaba, Freud criticó a dicho autor argumentando que para interpretar un sueño se debía de poseer un conocimiento muy profundo del soñador así como de las circunstancias que le rodeaban. Para Freud, la interpretación de los sueños basa su principal axioma en el concepto de que las ensoñaciones servían como válvula de escape para liberar la presión de deseos no satisfechos que el inconsciente ejercía sobre el consciente. Como era de esperarse y con el paso del tiempo, se han desarrollado diversas ramas científicas que pretenden explicar el fenómeno de las ensoñaciones, desde perspectivas dogmáticas de su origen hasta aquellas que abarcan las teorías sobre los mecanismos neurobiológicos. En el presente trabajo, revisaremos brevemente algunos puntos importantes que abordan el aspecto neurobiológico de las ensoñaciones.

Palabras clave: Sueño de movimientos oculares rápidos, electroencefalograma, ensoñaciones.

INTRODUCCIÓN

Los diversos núcleos y centros del sistema nervioso central (SNC) presentan modificaciones en sus ritmos y actividades, lo cual da origen a cambios conductuales, entre ellos el ciclo sueño-vigilia. Estas modificaciones, como las respuestas sinápticas, han sido registradas mediante el estudio de la actividad eléctrica del cerebro (el electroencefalograma, EEG). Dichas variaciones eléctricas fueron registradas por primera vez en 1928, y de este modo, se determinó la característica de las ondas eléctricas provenientes del cerebro en sujetos despiertos ¹.

La actividad eléctrica de las neuronas localizadas, por ejemplo, en el tallo cerebral, hipotálamo y cerebro basal anterior, han demostrado ser un elemento importante para la génesis del sueño. Además de las regiones neuroanatómicas mencionadas, también se sabe que diversas moléculas endógenas como neurotransmisores, péptidos y lípidos participan en la modulación del sueño ^{2,3}. Sistemas como el colinérgico, dopaminérgico y noradrenérgico se encuentran activos durante la vigilia (VIG), mientras que para el sueño de ondas lentas (SOL), se requiere de la liberación del neurotransmisor denominado GABA. Finalmente, la generación de la fase de sueño más profunda, llamada sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) es llevada a cabo por diferentes moléculas, entre ellas la acetilcolina ^{4,5}.

Esta última fase de sueño, el SMOR, debe su nombre al descubrimiento realizado por Aserinski y Kleitman en 1953. Dichos investigadores reportaron que durante un estudio de sueño en niños, se presentaba una fase de sueño inusual, la cual se caracterizaba, entre otras cosas, por presentar movimientos oculares, aun cuando el sujeto permanecía con los ojos cerrados. Estudios llevados a cabo en adultos demostraron que los sujetos, al ser despertados en esta fase, reportaban que habían soñado ⁶. De este modo, el SMOR había sido descrito y además, se le vinculaba con actividad onírica.

¿QUÉ ES EL SUEÑO?

El sueño puede ser definido como un estado conductual el cual se caracteriza por inmovilidad y un elevado umbral para responder ante estímulos del medio ambiente. Es acompañado por posturas estereotipadas que en la mayoría

de las especies estudiadas muestran ojos cerrados y quietud conductual ⁷. Dos estadios del sueño han sido identificados: el SOL y el SMOR. Entonces, el ciclo sueño-vigilia consiste en VIG, SOL y SMOR ⁸. Las características conductuales y polisomnográficas se encuentran representadas en la Figura 1.

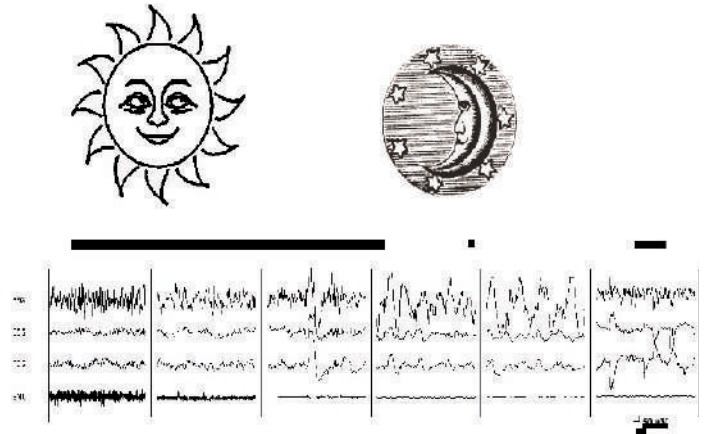


Figura 1. El ciclo sueño-vigilia en el humano se caracteriza por presentar diferentes estadios. Durante la vigilia, los registros polisomnográficos muestran actividad eléctrica rápida y de bajo voltaje (alpha: 9-10Hz) registrada en el electroencefalograma (EEG). Los electrodos colocados regularmente en el mentón para el registro de la actividad muscular (llevado a cabo por el electromiograma (EMG)), muestran actividad tónica. Los movimientos oculares son registrados por medio del electrooculograma (EOG) el cual aparece activo debido a que durante la vigilia, el sujeto generalmente se encuentra explorando el medio ambiente. Por otro lado, el sueño de ondas lentas (SOL) presenta 4 etapas. En la fase 1 se presenta un decremento en las ondas alpha y aparecen ondas de 3-7Hz. El EOG y EMG decrecientan su actividad. Durante la fase 2 del SOL se presentan los husos de sueño (ondas de 14Hz). Por otro lado, ondas lentas (<2Hz) con elevada amplitud (<75µV) que representan el 20-50% del registro polisomnográficos, acompañadas de una significativa disminución en la actividad del EOG y EMG, representan la fase 3 del SOL. En la última fase del SOL, se aprecia que el registro (>50%) está abundantemente poblado de ondas lentas de gran amplitud acompañadas de ondas llamadas complejos "K" y husos de sueño mientras que el EOG y EMG permanecen sin actividad. Finalmente, el SMOR se caracteriza por mostrar en el EEG una actividad eléctrica de gran velocidad y bajo voltaje (ondas theta: 8-12Hz), durante esta fase de sueño se presenta actividad en el EOG así como en el EMG, generalmente sacudidas musculares de los miembros inferiores del cuerpo. Abreviaciones: EEG, electroencefalograma; EOG, electrooculograma; EMG, electromiograma; SMOR, sueño de movimientos oculares rápidos.

Es durante la fase del SMOR cuando se dan las ensoñaciones; sin embargo, para tratar de entender el significado de los sueños, deberíamos primero revisar las teorías que han sido postuladas intentan explicar su génesis.

LAS ENSOÑACIONES Y LOS PROCESOS ONÍRICOS

El soñar es una experiencia común para todos los humanos, aún para 20% que cree no soñar o no recordar lo soñado. Según reportes, se presentan alrededor de 10 y 20 episodios oníricos cada noche, generalmente durante la fase de

SMOR⁹. Se han definido una serie de criterios para considerar a la actividad psíquica mientras dormimos como un sueño. Tenemos por ejemplo que el sujeto que sueña presenta una *consciencia alterada*, la cual hace referencia al hecho de que el sujeto desconoce que esta soñando y le es difícil cambiar el foco de atención sobre los eventos del sueño.

Se presenta además un *carácter alucinatorio*; es decir, la actividad onírica es evidentemente acompañada de experiencias de carácter visual provocadas por estímulos no existentes. Durante las ensoñaciones se presentan además *emociones*, las cuales se intensifican debido a la variedad de sucesos que se dan durante el sueño, así como por la carga emotiva debido al llanto, ira, alegría o miedo derivados del mismo sueño. Por otro lado, los sueños con emociones positivas (como alegría, euforia, afecto o amor) representan 30% del total de las ensoñaciones, mientras que la emoción más común en los sueños es la hostilidad, cólera o tristeza^{10, 11}. Los sueños con cargas emotivas negativas se presentan tres veces más en mujeres, siendo los temas más recurrentes la muerte (30%) y persecuciones (20%). Se ha reportado que si la frecuencia de pesadillas supera cuatro eventos por semana, entonces el sujeto corre el riesgo de desarrollar psicopatologías graves. Finalmente tenemos que la *originalidad* es un elemento adicional en las ensoñaciones, la cual se caracteriza por la creatividad del tema del sueño; no obstante esto, el argumento del sueño se aleja de ser un pensamiento propositivo y resulta entonces una pérdida de la guía voluntaria del curso del pensamiento. El *juicio crítico* es otro elemento, el cual se caracteriza por la aceptación pasiva de lo que se sueña, por ilógico e irreal que sea^{12, 13}.

¿PARA QUÉ SIRVEN LOS SUEÑOS?

Históricamente, podemos clasificar los abordajes que se le han dado a las funciones oníricas desde la antigua concepción, la cual entiende que los sueños son comunicaciones divinas, hasta el psicoanalítico, en el que los sueños son motivados por procesos inconscientes, y el psicofisiológico, el cual se deriva del descubrimiento del SMOR así como el más reciente, el cognitivo¹⁴⁻¹⁷.

Por otro lado, se ha sugerido que las ensoñaciones pueden ser, además, clasificadas de acuerdo con una realidad separada, otras con carácter profético o resultante

de una percepción no consciente y otras más como aquellas que resaltan los aspectos más importantes y significativos de la vida. Finalmente, las ensoñaciones podrían también ser consideradas como artefactos de la actividad cerebral^{18, 19}.

Finalmente, Cartwright postula que los sueños podrían ser una respuesta a las necesidades psicológicas y denomina esta postura como la perspectiva psicológica, mientras que la perspectiva psicofisiológica contempla las ensoñaciones como epifenómenos de la actividad general del cerebro^{20, 21}.

Perspectivas psicológicas

Dentro de esta categoría tenemos aquellas corrientes surgidas del psicoanálisis (Freud, Jung, Lacan), así como las teorías más recientes de carácter cognitivo. Esta última argumenta que las ensoñaciones tienen como finalidad la solución de problemas, mecanismos de reprogramación.

Perspectivas psicofisiológicas

La base de esta aproximación es la trascendencia que tiene el sistema nervioso central como principal actor en la función de las ensoñaciones. Ejemplo de esto es la importancia del postulado de la activación-síntesis del cerebro, la cual postula que los sueños son epifenómenos cuya fuente de activación es interna y aleatoria durante la fase de SMOR^{22, 23}.

CONCLUSIONES

La importancia de la influencia de los sueños sobre diversos aspectos del desarrollo de la humanidad ha sido tangible a lo largo de la historia. Sabemos de religiones como la católica cristiana, con el episodio de los sueños de José, esposo de María, en el cual un ángel le advertía sobre el peligro que corría su familia; mientras que las ensoñaciones de Mahoma le habían indicado que él había sido escogido para ser el Profeta. También ha sido objeto de inspiración para la escritura de obras literarias, como es el caso de *La Divina Comedia*, la cual, según el autor, Dante Alighieri, fue concebida en un sueño.

Hoy en día, el hombre sigue fascinado por el significado de las ensoñaciones y al mismo tiempo se llevan a cabo diversos estudios en laboratorios con la finalidad de

encontrar la respuesta de: ¿para qué sirven los sueños? Dada la complejidad de nuestro cerebro, el mundo de los sueños y su significado permanece aún oculto para nosotros ²⁴.

BIBLIOGRAFIA

- Berger, H. 1930. Ueber das Elektroenkephalogramm des Menschen. J Psychol Neurol 40: 169-79.
- Lu J, Greco MA. Sleep circuitry and the hypnotic mechanism of GABAA drugs. J Clin Sleep Med. 2006; 2(2) :S19-26.
- McCarley RW. Neurobiology of REM and NREM sleep. Sleep Med. 2007; 8(4): 302-30.
- McGinty D, Szymusiak R. Hypothalamic regulation of sleep and arousal. Front Biosci. 2003; 8:s1074-83.
- Harris CD. Neurophysiology of sleep and wakefulness. Respir Care Clin N Am. 2005; 11(4): 567-86.
- Aserinsky E and Kleitman N. Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. Science. 1953; 118(3062): 273-4.
- Carsadon, M.A., Dement, W.C. 2005. Normal human sleep: an overview. In: Kryger M.H., Roth T., and Dement W.C. (Eds). Principles and Practice of Sleep Medicine Vol 4. Elsevier Saunders, Philadelphia: 13-23.
- Roth T. Characteristics and determinants of normal sleep. J Clin Psychiatry. 2004; 65 Suppl 16:8-11.
- Casagrande M, Cortini P. Spoken and written dream communication: Differences and methodological aspects. Conscious Cogn. 2008 . IN PRESS
- Revonsuo A. The reinterpretation of dreams: an evolutionary hypothesis of the function of dreaming. Behav Brain Sci. 2000; 23(6): 877-901.
- Hobson A, Kahn D. Dream content: Individual and generic aspects. Conscious Cogn. 2007; 16(4): 850-8.
- Staunton H. Mammalian sleep. Naturwissenschaften. 2005; 92(5):203-20.
- Shields W. Dream interpretation, affect, and the theory of neuronal group selection: Freud, Winnicott, Bion, and Modell. Int J Psychoanal. 2006; 87(Pt 6): 1509-27.
- Hunt H. Dreams of Freud and Jung: reciprocal relationships between social relations and archetypal/transpersonal imagination. Psychiatry. 1992; 55(1): 28-47.
- McLeod MN. The evolution of Freud's theory about dreaming. Psychoanal Q. 1992; 61(1): 37-64.
- Staunton H. The function of dreaming. Rev Neurosci. 2001; 12(4):365-71.
- Eiser AS. Physiology and psychology of dreams. Semin Neurol. 2005; 25(1): 97-105.
- Cohen DB. A comparison of genetic and social contributions to dream recall frequency. J Abnorm Psychol. 1973; 82(2): 368-71.
- Schredl M, Ciric P, Götz S, Wittmann L. Typical dreams: stability and gender differences. J Psychol. 2004; 138(6): 485-94.
- Cartwright R, Agargun MY, Kirkby J, Friedman JK. Relation of dreams to waking concerns. Psychiatry Res. 2006; 141(3): 261-70.
- Cartwright RD. The role of sleep in changing our minds: a psychologist's discussion of papers on memory reactivation and consolidation in sleep. Learn Mem. 2004; 11(6): 660-3.
- Hobson JA. Sleep and dreaming: induction and mediation of REM sleep by cholinergic mechanisms. Curr Opin Neurobiol. 1992; 6: 759-63.
- Markov D, Goldman M. Normal sleep and circadian rhythms: neurobiologic mechanisms underlying sleep and wakefulness. Psychiatr Clin North Am. 2006; 29(4): 841-53.
- Foulkes D. Dream research: 1953-1993. Sleep. 1996; 19(8): 609-24.



COMUNICACIÓN CIENTÍFICA

Instrucciones para los autores

La Revista Médica de la Universidad Veracruzana es el Órgano oficial del Instituto de Ciencias de la Salud, Hospital Escuela y Facultad de Medicina-Xalapa; es un foro abierto a científicos, médicos, investigadores, docentes, estudiantes y otros profesionales de la salud que deseen expresar y compartir experiencias en temas desarrollados por esta comunidad de científicos. Se edita semestralmente e incluye: editoriales, artículos originales, especiales, de revisión bibliográfica, comunicaciones breves, comentarios, cartas al editor, reportes de casos clínicos, reporte de artículos publicados, una sección de historia de la medicina, arte y medicina y un vocabulario inglés-español de términos médicos. Debido a lo multidisciplinario de estos temas, se cubre una amplia gama de actividades médicas, procedimientos de laboratorio y actividades desarrolladas en las facultades y hospitales. Los editoriales sólo se considerarán por invitación.

La aceptación de publicar un trabajo es decisión exclusiva del comité editorial. Los manuscritos deben acompañarse de una carta cediendo los derechos editoriales a la revista, mencionando que no han sido publicados en otras revistas y ninguna publicación parcial o total del material enviado puede ser publicada o empleada en otro sitio sin autorización expresa de la revista. Los artículos en inglés deben ser previamente revisados por un corrector de estilo que tenga experiencia en el campo médico y/o biológico; en caso necesario en la oficina de la Revista se pueden obtener nombre y dirección de algunos expertos.

Toda correspondencia o escrito debe dirigirse a:

Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Instituto de Ciencias de la Salud

Av. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n

Col. Industrial las Ánimas

C. P. 91190, Xalapa, Veracruz, México

Tel. (228)8418925, fax (228)8418926

Correos electrónicos: revista_medica@uv.mx

rev_meduv@hotmail.com

Todos los manuscritos deberán enviarse en original y dos copias, acompañados de un disquete o CD que contenga la versión original en Microsoft Word, con letra Times New Roman 11, a doble espacio, en papel blanco tamaño carta por una sola cara, y las figuras en archivos JPG.

Cada sección o componente del manuscrito debe iniciar en una nueva página siguiendo la siguiente secuencia: (1) página del título, (2) resumen y palabras clave, (3) texto, (4) agradecimientos, (5) referencias, (6) cuadros (cada uno en una página con su título y pies por separado en otra hoja) y (7) pies de figuras. Todas las páginas deben ir numeradas, incluyendo la página del título, cuadros, figuras y referencias. Deben incluirse los permisos para reproducir material publicado previamente o para ilustraciones que puedan identificarse a alguna persona.

Página del título

El título deberá escribirse en español e inglés. En esta sección debe incluirse los nombres completos de los autores, grados académicos sin abreviaturas, la institución a la que pertenecen y fuentes de apoyo recibido. En la parte inferior debe señalarse nombre, dirección, apartado postal y teléfono, así como correo electrónico del autor responsable, a quien se le enviará cualquier notificación, pruebas de galeras y solicitud de sobretiros.

Resumen y palabras clave

Artículos originales: El resumen y el abstract deben ser menores de 250 palabras y deberán estructurarse con los subtítulos: introducción, objetivos, material y métodos, resultados y conclusiones. Al final debe incluirse una lista de tres a cinco palabras consideradas como clave para la publicación.

Artículo de revisión: El resumen y el abstract deben ser menores de 250 palabras. Al final debe incluirse una lista de tres a cinco palabras consideradas como clave para la publicación.

Texto

Cada parte debe iniciar en una página por separado manteniendo el siguiente orden: introducción, materiales y métodos, ética, resultados, discusión y, cuando sea necesario, conclusiones y recomendaciones. Hacemos un llamado para evitar la jerga exagerada de la especialidad, así como el abuso de las iniciales. Las instrucciones se presentan de acuerdo con el International Committee of Medical Journal Editors que se publicó en el *Ann Intern Med.* 1982; 96 766-71 y en el *Br Med J.* 1877-70, 1982; 284. Los nombres de equipo y fármacos deben hacer referencia a la compañía con su nombre completo. En caso de medicamentos, los nombres genéricos deben ir seguidos del nombre comercial entre paréntesis.

Bibliografía

Las referencias bibliográficas deben numerarse en el orden que fueron citadas en el texto y usar para su identificación números arábigos como superíndices. La lista de referencias también debe ir a doble espacio. Cuando haya más de 4 autores, se escribirá sólo el nombre del primero seguido por: y col. Apegarse a las normas del Index Medicus <http://www.encolombia.com/medicina/infectologia/infectologia4100sup-requisitos3.htm> como es el caso de las abreviaturas de revistas. Las comunicaciones personales y los resultados no publicados deben incorporarse al texto y no como referencias.

Cuadros

Deben contener los resultados más importantes. Sus títulos y pies deben ir en página aparte.

Figuras

Las figuras e ilustraciones deben ir en papel ilustración, papel albanene o equivalente. Las fotografías deben ser impresas en alto contraste, en blanco y negro y ser de tamaño postal (127 x 173 mm). Todas las figuras y fotos deben ir debidamente identificadas en su parte posterior con una etiqueta adherible, no escribir directamente sobre las figuras o fotografías. Toda figura debe ir acompañada de su texto o pie en hoja aparte.

Los artículos aceptados serán sometidos a una revisión editorial que puede incluir, en caso necesario, la condensación del texto, la corrección del estilo y la supresión o adición de cuadros, ilustraciones y anexos, sin modificarse el sentido del artículo.

La aceptación de los artículos será comunicada por escrito a los autores en un periodo no mayor a un mes desde la fecha de recepción. Para ello, deberán indicar claramente la dirección, teléfono, fax, correo electrónico y domicilio donde laboren los autores principales.