

# El sistema límbico y el sueño

José María Calvo\*

## Summary

Dreams are composed by hallucinatory, emotional and autonomic phenomena and they occur during rapid eye movement (REM) sleep. A widely distributed pontine neuronal generator network has been postulated for REM sleep and the pontine tegmental nuclei, which play a major role in ponto-geniculo-occipital (PGO) wave generation, have been considered as a major component of the neuronal network for REM sleep induction. However, other forebrain structures possibly composing and controlling this REM network, as those involved in hallucinatory, emotional and autonomic phenomena integration, have not yet been completely localized. PGO waves propagate to the temporal lobe amygdala (AMG) and amygdaloid electrical stimulation provokes the enhancement of PGO waves. We now explored the amygdaloid neuronal activity changes during the sleep-wake cycle. We have also analyzed the effect of carbachol microinjections into the AMG on sleep organization. Results show that 62% of amygdaloid neurons increase their discharge frequency during REM sleep and that 75% of them increase their frequency during PGO wave occurrence. Carbachol microinjections into the AMG induced a delayed but significant enhancement of REM sleep percentage. It is proposed that AMG plays a role in the integration of hallucinatory, emotional and autonomic phenomena of dreaming and that AMG may constitute a component of the REM sleep network. The role of cholinergic mechanisms in the physiological relationship between AMG and pontine nuclei responsible for PGO waves generation is discussed.

## Resumen

Las ensoñaciones están compuestas por fenómenos alucinatorios, emocionales y vegetativos, y ocurren durante el sueño con movimientos oculares rápidos (REM). El sueño REM se integra en amplias redes neuronales del tallo cerebral y los núcleos del tegmento pontino responsables de la generación de los potenciales ponto-geniculo-occipitales (PGO) han sido considerados como un componente importante de las redes neuronales inductoras del REM. Sin embargo, no han sido completamente delimitadas otras estructuras prosencefálicas, como aquellas donde se integran fenómenos emocionales, vegetativos y alucinatorios, que probablemente controlan a las redes neuronales del REM. Los potenciales PGO se propagan hacia la amígdala del lóbulo temporal (AMG) y la estimulación eléctrica de esta estructura provoca el aumento de los potenciales PGO. En el presente estudio, analizamos los cambios de la actividad neuronal amigdalina en relación al ciclo sueño vigilia. También analizamos el efecto de las microinyecciones de carbacol en la AMG sobre la organización del sueño. Los resultados muestran que el 62% de las neuronas amigdalinas incrementan su frecuencia de descarga durante el REM y que el 75% incrementan su frecuencia en relación a la ocurrencia de potenciales PGO. La microinyección de carbacol en la AMG provocó un incremento tardío pero significativo del porcentaje de sueño REM. Se propone que la AMG juega un papel importante en la integración de los fenómenos emocionales, vegetativos y alucinatorios de las ensoñaciones. También se propone la participación de mecanismos colinérgicos en las relaciones fisiológicas entre la AMG y los núcleos pontinos generadores de potenciales PGO.

\* División de Neurociencias. Instituto Mexicano de Psiquiatría, Calz. México-Xochimilco 101, Col. San Lorenzo Huipulco, 14370 México, D.F.

## Introducción

La fase de sueño con movimientos oculares rápidos (REM) es un estado fisiológico que ocurre de manera cíclica durante el dormir. Se acompaña de desincronización electroencefalográfica (EEG), atonía muscular y movimientos oculares rápidos (MORs).<sup>4,38</sup> También se acompaña de ensoñaciones que están estrechamente relacionadas con la ocurrencia de los MORs<sup>26</sup> y están compuestas de fenómenos alucinatorios y reminiscentes, así como de cambios emocionales y vegetativos.

En el gato, el sueño REM siempre está precedido (20 a 30 segundos) por periodos transicionales en los que comienzan a ocurrir los potenciales ponto-genículo-occipitales (PGO), denominados periodos de sueño fásico en ondas lentas (SF).<sup>75</sup> Los potenciales PGO ocurren con una frecuencia menor (15 a 20/min) durante los periodos SF que durante el REM (60 a 75/min). El hecho de que siempre precedan e incrementen su frecuencia durante el REM y que además sean los responsables de los MORs,<sup>19,20</sup> ha permitido postular que los mecanismos generadores de los potenciales PGO forman un componente importante de los mecanismos de instalación y mantenimiento del REM.<sup>12,39,68</sup>

Los mecanismos de integración del REM tienen lugar en extensas redes neuronales distribuidas en la región pontina del tallo cerebral.<sup>32,68-70</sup> Sin embargo, aún no han sido bien delimitadas dichas redes y tampoco han sido determinados con precisión los neurotransmisores y las estructuras prosencefálicas que pueden regularlas a largo plazo.

En la región pontina se localizan el campo tegmental gigantocelular (FTG), el campo tegmental magnocelular (FTM), el núcleo tegmental reticular (NTR), el complejo nuclear del *locus coeruleus* (LC) (*locus coeruleus alfa*, LC- $\alpha$ ; *locus subcoeruleus*, LSC; *peri-locus coeruleus*, PLC; *peri-locus coeruleus alfa*, Peri-LC- $\alpha$ ), el núcleo tegmental dorsolateral (NTDL) y el núcleo tegmental pedúnculo pontino (NTPP) que rodea a la región peribraquial (PBL). Estas estructuras desempeñan un papel importante en la generación de los potenciales PGO y del REM. Las células del LC- $\alpha$ , LSC, NTR, NTDL, NTPP y de la región PBL descargan en salvas precediendo a los potenciales PGO para generarlos.<sup>44,52,67-70</sup> También, algunas células de estos núcleos aumentan tónicamente su frecuencia de descarga desde unos segundos antes y durante el REM.<sup>23,69,73</sup> Por otra parte, el FTG, el FTM y el Peri-LC- $\alpha$  participan en la instalación del REM. Varios autores han mostrado que la activación colinérgica de estas estructuras mediante el carbacol (colinomimético), provoca la pronta ocurrencia de episodios prolongados de REM.<sup>5,78-80,82,83</sup> Recientemente, encontramos que una sola microinyección de carbacol en

la región PBL, provoca durante 20 a 24 horas la ocurrencia ininterrumpida de salvas de potenciales PGO, y que después de este fenómeno, el sueño REM y los episodios de SF se incrementan significativamente durante los siguientes 6 días.<sup>15,16,21,22</sup> Este hallazgo apoya notablemente la participación de mecanismos colinérgicos peribraquiales en la generación de los potenciales PGO y en la inducción del sueño REM. Sin embargo, queda por definir si la región PBL está, a su vez, bajo el control de estructuras del cerebro anterior que las regulen.

En el sistema límbico se integran funciones relacionadas con la emoción y con la regulación vegetativa.<sup>46</sup> Además, se ha demostrado que en el hombre, la estimulación eléctrica de algunas de sus estructuras provoca cambios emocionales y vegetativos, así como fenómenos reminiscentes y alucinatorios,<sup>28,29,60</sup> semejantes a los que ocurren durante las ensoñaciones. Estas propiedades del sistema límbico sugieren su participación durante las ensoñaciones. Debido a esto, en nuestro laboratorio hemos analizado el papel de algunas áreas límbicas en los mecanismos neurofisiológicos del REM.

Hemos encontrado que los potenciales PGO se propagan desde su origen pontino hacia diferentes estructuras del sistema límbico, como el cíngulo, el hipocampo y la amígdala del lóbulo temporal,<sup>17</sup> mostrando que la actividad de estas regiones se modifica fásicamente por los potenciales PGO. También hemos encontrado que la amígdala del lóbulo temporal ejerce un control facilitatorio sobre los potenciales PGO<sup>13</sup> ya que su estimulación eléctrica durante el REM provoca el aumento significativo del número de potenciales PGO. Por lo tanto, es probable que la amígdala constituya un componente de la red neuronal generadora del REM, pues además está anatómicamente relacionada con las regiones pontinas generadoras de potenciales PGO, como la región PBL, el LSC y el LC- $\alpha$ , mediante conexiones recíprocas a través del haz amigdalofugal ventral.<sup>8,48,54-56,58,61,62,66</sup>

Las relaciones anatómicas entre la amígdala y los núcleos generadores de potenciales PGO, la propagación de los potenciales PGO hacia la amígdala y la influencia facilitatoria de ésta sobre los potenciales PGO, nos han hecho proponer la existencia de un mecanismo de retroinformación positivo entre la amígdala y los núcleos generadores de potenciales PGO.

El objetivo del presente trabajo fue poner a prueba esta hipótesis, analizando los cambios de la actividad neuronal amigdalina en relación con el REM y los potenciales PGO. Asimismo, analizamos el efecto de la activación colinérgica de la amígdala para investigar la probable participación de la acetilcolina en la modulación amigdalina del sueño REM.

## Material y métodos

El estudio se llevó a cabo en dos grupos de gatos adultos, con electrodos implantados permanentemente para registrar los diferentes estados del sueño y la vigilia (electroencefalograma, EEG; electrooculograma, EOG; electromiograma, EMG), y con electrodos para el registro de los potenciales PGO en ambos cuerpos geniculados laterales. A un grupo de gatos se le colocó, además, un electrodo móvil para registros unitarios amigdalinos. Otro grupo de gatos fue preparado con cánulas guía para la microinyección de carbacol en ambos núcleos amigdalinos centrales.

Las intervenciones quirúrgicas para la implantación de los electrodos y las cánulas, se llevaron a cabo bajo anestesia general con pentobarbital (33 mg/kg). Los electrodos para el registro del EOG se colocaron en los límites anterior y posterior de la órbita ocular. Los electrodos para el registro EEG se colocaron superficialmente sobre la corteza sensoriomotora (para registrar predominantemente los husos del sueño) y sobre la corteza parietal (para registrar predominantemente las ondas lentas). Para el registro de los potenciales PGO se colocaron estereotáxicamente<sup>72</sup> electrodos constituidos por 5 alambres de acero inoxidable (de 0.25 mm. de grueso y con 0.5 mm. de separación vertical entre las puntas) en ambos cuerpos geniculados laterales (coordenadas: A 6.5, L 9.5, V +3.5). También se colocaron electrodos en los músculos de la nuca para el registro del EMG y un electrodo más sobre el seno frontal que se utiliza como electrodo tierra. Los alambres provenientes de todos los electrodos fueron soldados a un conector de 25 puntas y todo este arreglo fue fijado al cráneo con cemento acrílico. Al finalizar las intervenciones quirúrgicas se aplicaron antibióticos tópicamente en los bordes de las heridas y por vía intramuscular (penicilina) durante una semana.

Inmediatamente después de las intervenciones quirúrgicas, los animales fueron sometidos a un periodo de recuperación de 8 a 10 días. Durante este periodo, los gatos permanecieron en la cámara de registro con acceso libre al agua y alimentos y bajo un ciclo de luz-obscuridad constante (12:12 h.). Antes de comenzar cualquier serie experimental, los gatos fueron habituados a las condiciones de registro durante 8 horas (10:00-18:00 h.) en 5 días consecutivos.

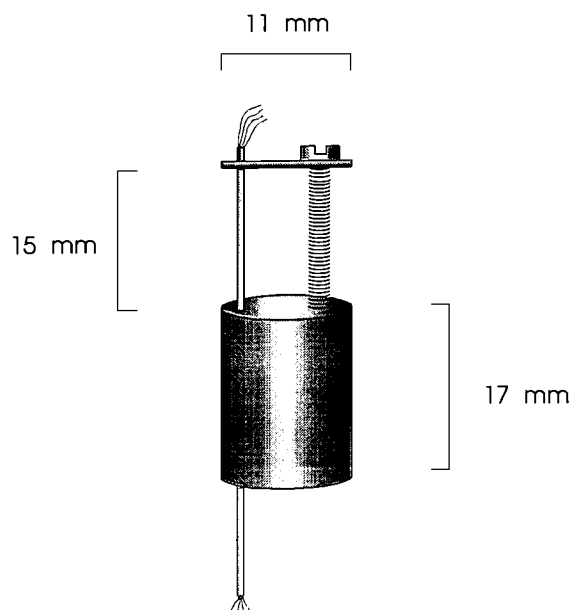
### *Registro de la actividad neuronal de los núcleos amigdalinos de gatos en libertad de movimiento*

Se utilizó un electrodo móvil, diseñado y construido en nuestro laboratorio (figura 1), constituido por una cánula (calibre 31) que contiene 8 microalambres (32 o 25  $\mu\text{m}$  de diámetro) y que permite un recorrido de 15 milíme-

tros en sentido vertical, en pasos de aproximadamente 80 a 100  $\mu\text{m}$ . La actividad recogida a partir de los microalambres fue asesorada continuamente en un osciloscopio y las descargas neuronales fueron asesoradas mediante un sistema de audio. Las señales también fueron enviadas a un sistema de discriminación de voltaje que genera pulsos al detectar la descarga de una neurona. Estos pulsos fueron enviados para registrarlos poligráficamente y así determinar su frecuencia y observar el patrón de descarga neuronal en relación con otras variables en registro (por ejemplo, el EEG o los potenciales PGO).

El electrodo móvil se colocó estereotáxicamente en su punto inicial de registro (0.5 mm. por arriba del núcleo amigdalino central; coordenadas: A 11.5, L 10.0, V -0.5). Después del periodo de habituación, las puntas de los microalambres fueron colocadas en el límite superior del núcleo amigdalino central (coordenadas: A 11.5, L 10.0, V -1.0). Solamente fueron analizadas las descargas neuronales que sobrepasaron por lo menos en un 50% a la actividad de base. Las descargas neuronales fueron analizadas durante 2 ciclos de sueño-vigilia. Este protocolo se repitió cada vez que los microalambres se descendían 50 ó 100  $\mu\text{m}$ , hasta que la punta de los electrodos alcanzaba la corteza piriforme.

El análisis de la actividad unitaria amigdalina consistió en determinar su frecuencia de descarga durante los estados de vigilia tranquila, sueño de ondas lentas 1 (S1), sueño de ondas lentas 2 (S2), SF, REM y en relación con la ausencia y presencia de actividad PGO durante el REM. Cada neurona registrada se clasificó según el aumento o disminución de su frecuencia de descarga en



**Figura 1.** Representación esquemática del electrodo móvil utilizado para el registro de la actividad neuronal amigdalina.

los diferentes estados de sueño, tomando como punto de referencia su frecuencia durante el estado de vigilia. Las unidades que tuvieron un comportamiento semejante fueron agrupadas para calcular el porcentaje que ocupan dentro del número total de neuronas registradas. Se promedió la frecuencia de descarga de un mismo grupo neuronal y se evaluaron estadísticamente las diferencias entre la frecuencia promedio encontrada en cada estado del sueño, mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y la prueba *t* de Student. También fueron evaluadas estadísticamente durante el REM, las diferencias entre las frecuencias promedio en presencia y en ausencia de la actividad PGO.

#### *Administración de microinyecciones de carbacol en la amígdala*

Para aplicar las microinyecciones de carbacol, se colocaron estereotáxicamente cánulas guía (calibre 24) que permiten inserciones repetidas del inyector (cánula calibre 36) en el mismo sitio cerebral. Se colocaron 2 cánulas para llevar a cabo microinyecciones en ambas amígdalas (A 11.5, L 10.0, V -0.5). Las puntas de las cánulas se colocan 5 mm. por arriba del sitio de inyección. Estas cánulas tienen, además, 2 alambres de acero inoxidable adheridos para registrar los cambios electrográficos provocados por el carbacol. Los inyectores están constituidos por cánulas que tienen soldada en su parte superior otro tramo de cánula más gruesa (calibre 24), al cual se conecta un catéter (PE20), y éste es conectado a una jeringa Hamilton de 1 µl. El inyector fue insertado en la cánula guía implantada crónicamente y se administraron 4 µg de carbacol disueltos en 0.25 µl de solución salina o 0.25 µl de solución salina control. El tiempo de administración fue de un minuto y el inyector se mantuvo en el sitio de inyección por un minuto más antes de extraerlo.

Después del periodo de habituación se llevaron a cabo 2 registros consecutivos control de 8 horas de sueño. Posteriormente, se analizó el efecto de las microinyecciones unilaterales de carbacol, aplicadas en el núcleo central de la amígdala. Se aplicó un total de 8 microinyecciones con un intervalo de 8 días entre cada aplicación. Los registros poligráficos de sueño empezaron simultáneamente al iniciarse la microinyección de carbacol (10:00 am) y duraron 8 horas. También se llevaron a cabo registros de la misma duración durante los 2 días siguientes a la microinyección. Los registros poligráficos fueron analizados visualmente para determinar los periodos de vigilia, S1, S2, SF y REM.<sup>77</sup> El análisis estadístico del porcentaje de cada uno de los estados de sueño fue calculado mediante un programa computacional para la valoración del sueño del gato.<sup>18</sup> Las diferencias entre los valores promedio obtenidos en situaciones

de control y los obtenidos después de la administración de carbacol fueron valoradas estadísticamente mediante las pruebas de ANOVA y *t* de Student.

## Resultados

### *Actividad neuronal amigdalina*

El método del electrodo móvil nos permitió analizar la actividad neuronal de diferentes núcleos amigdalinos (*ie.* central, basomedial y basal) en relación con los estados de sueño y vigilia, y con los potenciales PGO. Pudimos analizar un total de 80 neuronas que sobrepasaron en un 50% al voltaje de la actividad de fondo.

Durante el estado de vigilia, S1, S2 y SF, la frecuencia promedio de descarga de todas las neuronas fue de 1.0 a 1.5 cps y no mostraron diferencias estadísticamente significativas de un estado al otro. En cambio, durante el sueño REM, su frecuencia aumentó significativamente en relación con la frecuencia que mostraron durante el estado de vigilia. Al analizar su frecuencia de acuerdo con la presencia o ausencia de potenciales PGO durante el sueño REM, encontramos que en los periodos tónicos de esta fase del sueño, en los que no ocurren potenciales PGO, la frecuencia neuronal no mostró cambios significativos en comparación con el estado de vigilia, pero en presencia de potenciales PGO, las neuronas descargaron en forma de salvas y su frecuencia alcanzó los valores más altos, siendo significativamente mayores que en la vigilia (figura 2).

El análisis del porcentaje de neuronas que aumentó su frecuencia de descarga durante las diferentes fases del sueño, en relación con la frecuencia presentada durante la vigilia, mostró los siguientes resultados. Del 48 al 52% de las neuronas mostraron un aumento durante el S1 y el S2; durante los periodos SF, el 30% de las neuronas aumentó su frecuencia de descarga. En cambio, el 62% de las neuronas incrementó su frecuencia durante el sueño REM y, dentro de esta fase del sueño, el 75% de las neuronas aumentó su frecuencia durante la ocurrencia de potenciales PGO; en ausencia de estos potenciales, solamente el 28% de las neuronas incrementó su frecuencia (figura 2).

### *Efecto de las microinyecciones de carbacol en la amígdala sobre el sueño*

La administración de una microinyección de carbacol (4 µg/0.25 µl salina) en el núcleo central de la amígdala provocó los siguientes cambios poligráficos. La actividad EEG de la amígdala inyectada mostró una desincronización sostenida durante 4 horas, que comenzó

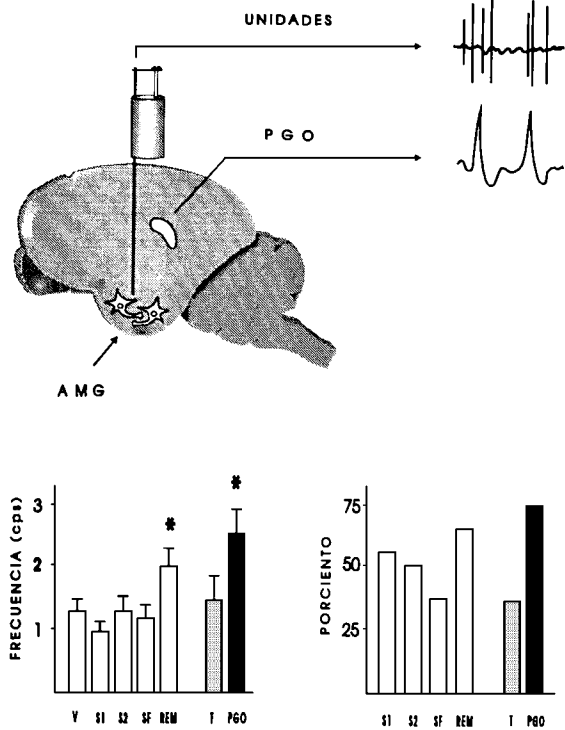


Figura 2. En la parte superior se representa esquemáticamente la metodología empleada para el registro de las neuronas amigdalinas y la relación de su actividad con los potenciales PGO del cuerpo geniculado lateral. La gráfica inferior izquierda representa la frecuencia promedio ( $\pm$  error estándar,  $n = 80$  neuronas registradas) de las neuronas amigdalinas en los estados de vigilia (V), sueño de ondas lentas 1 (S1), sueño de ondas lentas 2 (S2), periodos de sueño fásico en ondas lentas (SF), durante los periodos tónicos (T) del REM y durante los potenciales ponto-geniculo-occipitales (PGO). La gráfica inferior derecha representa el porcentaje de neuronas que aumentaron su frecuencia de descarga en las diferentes fases del sueño, tomando como referencia la frecuencia mostrada durante la vigilia. AMG, amígdala del lóbulo temporal; \*  $p < 0.01$ .

entre 5 y 7 minutos después de la microinyección. La actividad EEG cortical también mostró una desincronización sostenida que duró de 40 minutos a 1 hora, comenzando de 15 a 20 minutos después de la microinyección.

El análisis del porcentaje de los diferentes estados de vigilia y del sueño mostró los siguientes resultados. El día de la microinyección (D1), el porcentaje de la vigilia aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) en comparación con las condiciones de control (C). Este aumento de la vigilia se acompañó de una discreta disminución del S1 y del S2, sin observarse cambios significativos en el porcentaje de sueño REM. El segundo y tercer día (D2 y D3, respectivamente) después de la microinyección de carbacol, el porcentaje de sueño REM aumentó progresivamente, alcanzando valores significativamente más altos que en situaciones de control (figura 3). Este au-

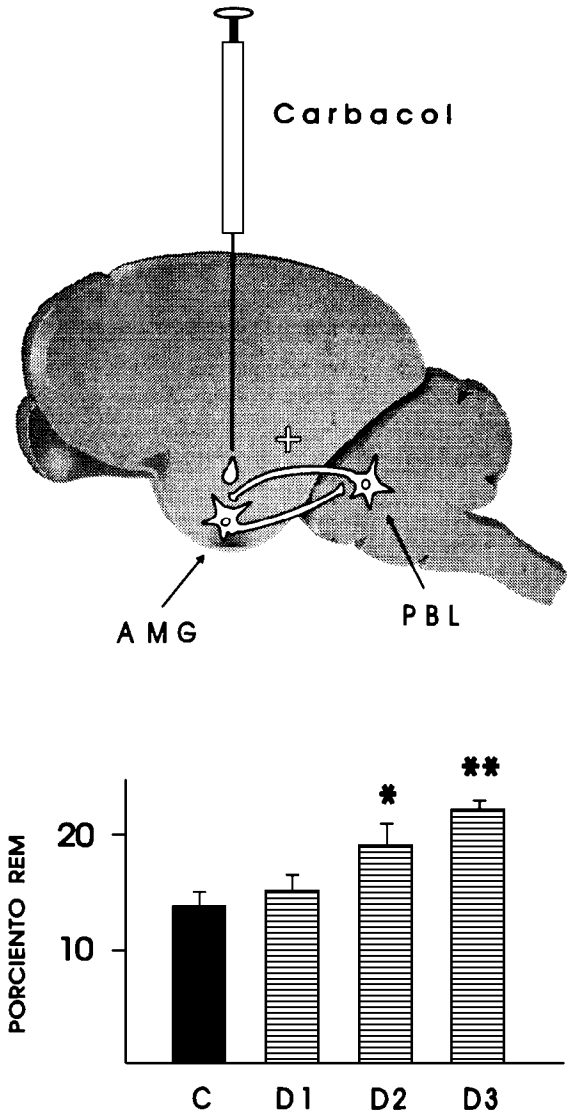


Figura 3. En la parte superior se representa esquemáticamente la microinyección de carbacol en la amígdala del lóbulo temporal (AMG) y el circuito hipotético de retroinformación positiva entre la AMG y la región peribraquial (PBL). La gráfica inferior representa el efecto de la microinyección de carbacol en la amígdala sobre el porcentaje de sueño REM. C, situación control; D1, día de la administración de carbacol; D2 y D3, segundo y tercer día posteriores a la microinyección de carbacol respectivamente. Los datos expresan el promedio  $\pm$  error estándar ( $n = 8$  microinyecciones). \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ .

mento del REM se acompañó de la disminución significativa ( $p < 0.05$ ) del estado de vigilia y del S1.

### Discusión

Los resultados del presente estudio muestran, por una parte, que las neuronas amigdalinas son activadas durante el REM. Por otra parte, muestran que la activación

colinérgica amigdalina induce el incremento del sueño REM.

Los potenciales PGO se propagan hacia la amígdala<sup>17</sup> y la estimulación eléctrica de esta estructura límbica provoca el aumento de los potenciales PGO<sup>13</sup>. Estos resultados y el hecho de que las neuronas amigdalinas aumenten su frecuencia de descarga durante el sueño REM y, en particular, durante la ocurrencia de los potenciales PGO, apoyan la hipótesis acerca de la existencia de un mecanismo positivo de retroinformación entre la amígdala y las regiones pontinas generadoras de los potenciales PGO.

Por otra parte, algunas neuronas amigdalinas (30%) incrementan su actividad durante los periodos transicionales entre el S2 y el REM; en los periodos SF comienzan a ocurrir los potenciales PGO. Este fenómeno apoya la relación fisiológica que hay entre la amígdala y los núcleos pontinos generadores de potenciales PGO. Además, sugiere la participación de la amígdala en los mecanismos inductores del sueño REM.

En el hombre, como en el gato, también ha sido posible detectar la existencia de potenciales PGO durante el sueño REM.<sup>45,50</sup> Los movimientos oculares de esta fase del sueño y los fenómenos sensoriales de las ensoñaciones pueden explicarse por la propagación de los potenciales PGO hacia los sistemas oculomotor, visual y auditivo.<sup>19,20,32,37</sup> Sin embargo, los fenómenos alucinatorios elaborados y los fenómenos reminiscentes de las ensoñaciones, no pueden ser explicados por la activación de los sistemas sensoriales primarios. Se ha demostrado que en el hombre, la estimulación eléctrica de las vías sensoriales solamente provoca la percepción de sensaciones elementales sin ningún contenido (cambios de luminosidad, formas geométricas, zumbidos, etc.).<sup>60</sup> En cambio, la estimulación eléctrica de estructuras límbicas, como la amígdala, provoca la ocurrencia de alucinaciones elaboradas, acompañadas de reminiscencias de tipo personal y de un contenido emocional, además de la sensación de estar soñando.<sup>6,11,28-30,40,41,47,60,64,76</sup> El hecho de que los potenciales PGO se propaguen a la amígdala y que éstos provoquen la excitación de sus neuronas, indica su probable participación en los fenómenos alucinatorios y reminiscentes de las ensoñaciones.

A partir de estudios experimentales también se tienen evidencias sólidas de la integración amigdalina de cambios emocionales y vegetativos.<sup>1</sup> La estimulación eléctrica amigdalina en el gato<sup>41,47,76</sup> y en el mono<sup>64</sup> provoca dichos cambios.

Es importante señalar que si bien las regiones pontinas son indispensables para generar el REM, no son exclusivas de esta función; participan también en la integración de funciones vegetativas. La región PBL y el complejo nuclear del LC, además de generar a los potenciales

PGO, también son componentes importantes de los circuitos de control respiratorio, cardiovascular y visceromotor.<sup>10,55,62,81</sup> Ha quedado bien demostrado que la amígdala juega un papel importante en una amplia variedad de respuestas somatomotoras y vegetativas asociadas con las emociones, tales como la huida, la defensa, el miedo y el ataque.<sup>2,3,24,25,59</sup>

Durante el REM suceden variaciones vegetativas (respiratorias y de la frecuencia cardíaca) en estrecha relación con la ocurrencia de potenciales PGO y de MORs.<sup>7,14,57,74</sup> El hecho de que la amígdala aumente su excitabilidad durante el REM y en particular durante la ocurrencia de potenciales PGO, permite pensar que la amígdala puede intervenir en la regulación de los fenómenos emocionales y de los cambios vegetativos de las ensoñaciones.

La hipótesis sobre la naturaleza colinérgica del sueño REM, propuesta inicialmente por Hernández-Peón<sup>31</sup> y Jouvét,<sup>36</sup> ha sido reforzada recientemente y se han localizado algunas estructuras colinérgicas/colinoceptivas que participan en su instalación. La microinyección de carbacol en los núcleos FTG y FTM induce la pronta ocurrencia de episodios prolongados de REM.<sup>5,79,82</sup> Sin embargo, aunque estos núcleos son colinoceptivos, carecen en absoluto de neuronas colinérgicas,<sup>71</sup> incluso en las zonas colinoceptivas más sensibles para la inducción del REM por el carbacol. Recientemente, hemos demostrado que los impulsos colinérgicos para la instalación del REM pueden provenir de la región PBL, ya que la microinyección de carbacol en esta región produce la aparición ininterrumpida de potenciales PGO, seguida de un incremento duradero del REM.<sup>15,16,21,22</sup> Esta región posee numerosos cúmulos de células colinérgicas<sup>27,34,35</sup> y, además, da origen a abundantes eferencias colinérgicas hacia el FTG y el FTM.<sup>49,63</sup>

Los resultados del presente estudio muestran que la microinyección de carbacol en la amígdala provoca el incremento tardío (24 horas) pero duradero (3 días) del sueño REM. Es de interés señalar que el núcleo amigdalino central proyecta y recibe fibras de la región PBL, donde la aplicación de carbacol induce la aparición de salvas de potenciales PGO y el incremento del sueño REM. Por otro lado, el núcleo central de la amígdala también contiene células colinérgicas,<sup>62</sup> y la estimulación eléctrica amigdalina provoca el aumento de salvas de potenciales PGO. Todos estos resultados sugieren la participación de la acetilcolina en la modulación amigdalina de los potenciales PGO. Asimismo, sugieren que la amígdala forma parte de las redes neuronales para la inducción del sueño REM. El incremento del REM por la activación colinérgica de la amígdala y el incremento de la actividad neuronal amigdalina durante los periodos SF, apoyan esta hipótesis.

Los efectos inmediatos del carbacol (desincronización amigdalina y cortical) pueden explicarse por la activación de receptores muscarínicos. Sin embargo, debido al tiempo de acción farmacológica del carbacol (8 a 10 minutos), los efectos a largo plazo no parecen deberse a la activación muscarínica. El desarrollo lento del efecto tardío (24 horas) y duradero (3 días) sobre el sueño REM, sugiere que el carbacol induce cambios en la síntesis de proteínas y enzimas que responden, a través de segundos mensajeros, a las señales de transducción subsiguientes a la activación del receptor muscarínico.

Es bien sabido que el carbacol interactúa con los receptores muscarínicos. Su unión con estos receptores activa a la fosfolipasa C (FLC) por medio de la proteína G.<sup>51</sup> La activación de la FLC genera segundos mensajeros, como el diacilglicerol (DAG) y el inositol trifosfato. Se ha demostrado que las señales metabólicas que aumentan los niveles intracelulares de calcio ( $Ca^{2+}$ ) y de DAG modulan varias funciones celulares por medio de la activación de la proteína cinasa C (PCC).<sup>9,53</sup> En el sistema nervioso central, se ha relacionado la activación de la PCC con el aumento de la liberación de neurotransmisores<sup>42,43</sup> y con las modificaciones de la plasticidad neuronal.<sup>33,65</sup> Con base en estos hallazgos, podría pensarse que el carbacol produce cambios duraderos en la responsabilidad de las neuronas colinérgicas o colinoceptivas de la amígdala y que esto puede provocar el incremento de los impulsos eferentes amigdalinos hacia sus estructuras blanco, como la región PBL, donde se generan los potenciales PGO y cuya activación colinérgica también produce el aumento del sueño REM.

### Agradecimientos

El autor agradece ampliamente a la estudiante en Psicología, Karina Simón Arceo por su colaboración en el análisis de los datos del presente estudio. Asimismo, agradece la excelente ayuda técnica de los señores Carlos Jiménez Rodríguez y Carlos Camacho García.

### Referencias

- AGGLETON JP: *The Amygdala*. Wiley-Liss. Nueva York, pp. 1-615, 1992
- AGGLETON JP: The Functional Effects of Amygdala Lesions in Humans - A Comparison with Findings from Monkeys. En: J P Aggleton (ed). *The Amygdala*. Wiley-Liss, Nueva York, 485-503, 1992.
- APPLEGATE CD, KAPP BS, UNDERWOOD MD, McNALL CL: Autonomic and somatomotor effects of amygdala central nucleus stimulation in awake rabbits. *Physiol Behav*, 31:353-360, 1983.
- ASERINSKY E, KLEITMAN N: Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science*, 118:273-274, 1953.
- BAGHDOYAN H A, RODRIGO-ANGULO ML, MC-CARLEY RW, HOBSON JA: Site-specific enhancement and suppression of desynchronized sleep signs following cholinergic stimulation of three brainstem regions. *Brain Res*, 306:39-52, 1984.
- BANCAUD J, TALAIRACH J, GEIER S, BONIS A, TRITIER S, MANRIQUE M: Manifestations comportementales induites par la stimulation électrique du gyrus cingulaire antérieur chez l'homme. *Rev Neurol (Paris)*, 132:705-724, 1976.
- BAUST W, HOLZBACH E, ZECHLIN O: Phasic changes in heart rate and respiration correlated with PGO-spikes activity during REM sleep. *PflugersArch*, 331:113-123, 1972.
- BERNARD JF, CARROUÉ J, BESSON JM: Efferent projections from the external parabrachial area to the forebrain: a Phaseolus Vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neurosci Lett*, 122:257-260, 1991.
- BERRIDGE MJ: Inositol triphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers. *Annu Rev Biochem*, 56:159-193, 1987.
- BERTRAND F, HUGELIN A: Respiratory synchronizing function of nucleus parabrachialis medialis: pneumotoxic mechanisms. *J Neurophysiol*, 34:189-207, 1971.
- BRAZIER MAB: Stimulation of the hippocampus in man using implanted electrodes. En: M A B Brazier (ed). *RNA and Brain Function, Memory and Learning*. University of California Press, Berkeley, 299-310, 1966.
- CALLAWAY CW, LYDIC R, BAGHDOYAN HA, HOBSON JA: Pontogeniculooccipital waves: spontaneous visual system activity during rapid eye movement sleep. *Cell Mol Neurobiol*, 7:105-149, 1987.
- CALVO JM, BADILLO S, MORALES-RAMIREZ M, PALACIOS-SALAS P: The role of temporal lobe amygdala in ponto-geniculo-occipital activity and sleep organization in cats. *Brain Res*, 403:22-30, 1987.
- CALVO JM, CONTRERAS CM, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Fluctuaciones de la frecuencia cardiaca durante la fase REM. *Bol Estud Med Biol Méx*, 28: 93--, 1973.
- CALVO JM, DATTA S, QUATTROCHI JJ, HOBSON JA: Cholinergic microstimulation of the parabrachial nucleus in the cat: II. Delayed and prolonged increases in REM sleep. *Arch Ital Biol*, 1992 (en prensa).
- CALVO JM, DATTA S, STICKGOLD R, QUATTROCHI JJ, HOBSON JA: Prolonged REM sleep enhancement following carbachol microinjection in the peribrachial region of the dorsolateral pons. *Sleep Res*, 20:16, 1991.
- CALVO JM, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Phasic activity of basolateral amygdala, cingulate gyrus, and hippocampus during REM sleep in the cat. *Sleep*, 7:202-210, 1984.
- CALVO JM, FERNANDEZ-MAS R: Amygdaloid kindling during wakefulness and paradoxical sleep in the cat. 2. Sleep organization changes produced by kindling development. *Epilepsy Res*, 9:175-183, 1991.
- CESPUGLIO R, LAURENT JP, CALVO JM: Organisation anatomique des activités phasiques provoquées par la reserpine au niveau du système oculo-moteur. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 40:12-24, 1976.
- CESPUGLIO R, LAURENT JP, JOUVET M: Etude des relations entre l'activité ponto-géniculo-occipitale (PGO) et la motricité oculaire chez le chat sous reserpine. *Brain Res*, 83:319-335, 1975.
- DATTA S, CALVO JM, QUATTROCHI JJ, HOBSON JA: Long-term enhancement of REM sleep following cholinergic stimulation. *Neuroreport*, 2:619-622, 1991.
- DATTA S, CALVO JM, QUATTROCHI JJ, HOBSON JA: Cholinergic microstimulation of the parabrachial nucleus in the cat: I. Immediate and prolonged increases in ponto-geniculo-occipital waves. *Arch Ital Biol*, 1992 (en prensa).
- DATTA S, PARE D, OAKSON G, STERIADE M: Thalamic-projecting neurons in brainstem cholinergic nuclei increase their firing rates one minute in advance of EEG desynchronization associated with REM sleep. *Soc Neurosci Abstr*, 15: 452-45, 1989.

24. DAVIS M: The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu Rev Neurosci*, 15: 353-375, 1992.
25. DAVIS M: The role of the amygdala in conditioned fear. En: J P Aggleton (ed). *The Amygdala*. Wiley-Liss, Nueva York, 255-305, 1992.
26. DEMENT WC, KLEITMAN N: The relation of eye movement during sleep to dream activity. *J Exp Psychol*, 53:339-346, 1957.
27. DOLABELA A, SINGER W: The brainstem projection to the lateral geniculate nucleus in the cat: identification of cholinergic monoaminergic elements. *J Comp Neurol*, 259:92-121, 1987.
28. FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Reminiscences elicited by electrical stimulation of the temporal lobe in humans. En: R Druker-Colin, J L McGaugh (eds). *Neurobiology of Sleep and Memory*. Academic Press, Nueva York, 273-280, 1977.
29. HALGREN E: Emotional neurophysiology of the amygdala within the context of human cognition. En: J P Aggleton (ed). *The Amygdala*. Wiley-Liss, Nueva York, 191-228, 1992.
30. HEAT RG: Pleasure response of human subjects to direct stimulation of the brain: physiologic and psychodynamic considerations. En: R G Heat (ed). *The Role of Pleasure in Behavior*. Harper and Row, Nueva York, 219-243, 1964.
31. HERNANDEZ-PEON R, CHAVEZ-IBARRA G, MORGANE PJ, TIMO-IARIA C : Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotional behavior. *Exp Neurol*, 8: 93-111, 1963.
32. HOBSON JA, LYDIC R, BAGHDOYAN HA: Evolving concepts of sleep cycle generation: from brain centers to neuronal populations. *Behav Brain Sci*, 9:371-448, 1986.
33. HUANG KP: The mechanisms of protein kinase C activation. *Trends Neurosci*, 12:425-432, 1989.
34. JONES BE: Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neuroscience*, 40:637-653, 1991.
35. JONES BE, BEAUDET A: Distribution of acetylcholine and catecholamine neurons in the cat brainstem: a choline acetyltransferase and tyrosine hydroxylase immunohistochemical study. *J Comp Neurol*, 261:15-35, 1987.
36. JOUVET M: Recherches sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. *Arch Ital Biol*, 100:125-206, 1962.
37. JOUVET M: Neuromédiateurs et facteurs hypnogenes. *Rev Neurol*, 140:389-400, 1984.
38. JOUVET M, MICHEL F: Correlations électromyographiques du sommeil chez le chat décortiqué et mésencéphalique chronique. *C R Soc Biol*, 153:422-425, 1959.
39. JOUVET M, MICHEL F, COURJON J: Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. *C R Soc Biol*, 153:1024-1028, 1959.
40. KAADA BR: Somatomotor autonomic and electroencephalographic responses to electrical stimulation of "rinencephalic" and other structures in primates, cat and dog: a study of responses from limbic, subcallosal, orbito insular, piriform and temporal cortex, hippocampus-fornix and amygdala. *Acta Physiol Scand*, 24 (suppl 83):1-285, 1951.
41. KAADA BR: Stimulation and regional ablation of the amygdaloid complex with reference to functional representation. En: B E Eleftheriou (ed). *The Neurobiology of the Amygdala*. Plenum Press, Nueva York, 205-281, 1972.
42. MALENKA RC, AYOUB GS, NICOLL RA: Phorbol esters enhance transmitter release in rat hippocampal slices. *Brain Res*, 403:198-203, 1987.
43. MALENKA RC, MADISON DV, NICOLL RA: Potentiation of synaptic transmission in the hippocampus by phorbol esters. *Nature*, 321:175-177, 1986.
44. MCCARLEY RW, NELSON JR, HOBSON JA: Ponto-Geniculo-Occipital (PGO) burst neurons: correlative evidence for neuronal generators of PGO waves. *Science*, 201: 269-272, 1978.
45. MCCARLEY RW, WINKELMAN JW, DUFFY FH: Human cerebral potentials associated with REM sleep rapid eye movement: links to PGO waves and waking potentials. *Brain Res*, 274:359-364, 1983.
46. MCLEAN PD: Psychosomatic disease and the "visceral brain": recent developments behaving on Papez theory of emotion. *Psychosom Med*, 11:338-353, 1940.
47. MCLEAN PD, DELGADO JMR: Electrical and chemical stimulation of fronto-temporal portion of limbic system in the waking animal. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 5:91-100, 1953.
48. MEHLER WR: Subcortical afferent connections of the amygdala in the monkey. *J Comp Neurol*, 190:733-762, 1980.
49. MITANI A, ITO K, HALLANGER AE, WAINER BH, KATOAKA K, MCCARLEY RW: Cholinergic projections from the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei to the pontine gigantocellular tegmental field. *Brain Res*, 451:397-402, 1988.
50. MIYAUCHI S, TAKINO R, FOKUDA H, TORII S: Electrophysiological evidence of dreaming: human cerebral potentials associated with rapid eye movements during REM sleep. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 66:383-391, 1987.
51. NATHANSON N: Molecular properties of the muscarinic acetylcholine receptor. *Ann Rev Neurosci*, 10:195-236, 1987.
52. NELSON JP, MCCARLEY RW, HOBSON JA: REM sleep burst neurons, PGO waves, and eye movement information. *J Neurophysiol*, 50:784-797, 1983.
53. NISHIZUKA Y: The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation. *Nature*, 334:661-665, 1988.
54. NOMURA S, MIZUNO N, ITOH K, MATSUDA K, SUGIMOTO T, NAKAMURA Y: Localization of parabrachial nucleus neurons projecting to the thalamus or the amygdala in the cat using horseradish peroxidase. *Exp Neurol*, 64:375-385, 1979.
55. NORGREN R: Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *J Comp Neurol*, 166:17-30, 1976.
56. NORITA M, KAWAMURA K: Subcortical afferents to the monkey amygdala: an HRP study. *Brain Res*, 190:225-330, 1980.
57. OREM J: Control of the upper airways during the sleep and the hypersomnia- sleep apnea syndrome. En: J Orem, CD Barnes (eds). *Physiology in Sleep*. Academic Press, Nueva York, 273-308, 1980.
58. OTTERSEN OP: Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat with some observations in the cat: III. Afferents from the lower brainstem. *J Comp Neurol*, 202:335-356, 1981.
59. PASCOE JP, KAPP BS: Electrophysiological characteristics of amygdala central nucleus neurons in the awake rabbit. *Brain Res*, 14:331-338, 1985.
60. PENFIELD WP, PEROT P: The brain's record of auditory and visual experience. A final summary and discussion. *Brain*, 86:595-696, 1963.
61. PRICE JL, AMARAL DG: An autoradiographic study of the projections of the central nucleus of the monkey amygdala. *J Neurosci*, 1:1242-1259, 1981.
62. PRICE JL, RUSSCHEN FT, AMARAL DG: The limbic region. II: The amygdaloid complex. En: A Bjorklund, T Hokfelt, L W Swanson (eds). *Handbook of Chemical Neuroanatomy. Vol 5, Integrated Systems of the CNS, Part I, Hypothalamus, Hippocampus, Amygdala, Retina*. Elsevier, Amsterdam - Nueva York - Oxford, 279-388, 1987.
63. QUATTROCHI JJ, MAMELAK AN, MACKLIS JD, MADISON R, HOBSON J A: Mapping neuronal inputs to REM sleep induction sites with carbachol fluorescent microspheres. *Science*, 245:984-986, 1989.
64. REIS DJ, OLIPHANT MC: Bradycardia and tachycardia following electrical stimulation of the amygdaloid region in monkey. *J Neurophysiol*, 27:893-912, 1964.
65. ROUTTENBERG A: Protein kinase C activation leading to protein F1 phosphorylation may regulate synaptic plasticity by presynaptic terminal growth. *Behav Neuronal Biol*, 44:186-200, 1985.



66. RUSSCHEN FT: Amygdalopetal projections in the cat: II. Subcortical afferent connections. A study with retrograde techniques. *J Comp Neurol*, 207:157-176, 1982.
67. SAITO H, SAKAI K, JOUVET M: Discharge pattern of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. *Brain Res*, 134:59-72, 1977.
68. SAKAI K: Some anatomical and physiological properties of pontomesencephalic tegmental neurons with special reference to the PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. En: J A Hobson, M A B Brazier (eds). *The Reticular Formation Revisited*. Raven Press, Nueva York, 427-447, 1980.
69. SAKAI K: Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. En: D J McGinty (ed). *Brain Mechanisms of Sleep*. Raven Press, Nueva York, 111-137, 1985.
70. SAKAI K, JOUVET M: Brain stem PGO-ON cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Res*, 194:198, 1980.
71. SHIROMANI PJ, ARMSTRONG DM, BERKOWITZ A, JESTE DV, GILLIN JC: Distribution of choline acetyltransferase immunoreactive somata in the feline brainstem: implications for REM sleep generation. *Sleep*, 11:1-16, 1988.
72. SNIDER RS, NIEMER WT: *A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain*. Chicago Press. Chicago, IL., 1961.
73. STERIADE M, PARÉ D, DATTA S, OAKSON G, CURRO-DOSSI R: Different cellular types in mesopontine cholinergic nuclei related to ponto-geniculo-occipital waves. *J Neurosci*, 10:2560-2579, 1990.
74. TAYLOR WB, MOLDOFSKY H, FUREDY JJ: Heart rate deceleration in REM sleep: an orientating reaction interpretation. *Psychophysiology*, 22:110-115, 1985.
75. THOMAS J, BENOIT O: Individualisation d'un sommeil à ondes lentes et activité phasique. *Brain Res*, 5:221-235, 1967.
76. URSIN H, KAADA BR: Functional localization within the amygdaloid complex in the cat. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 12:1-20, 1960.
77. URSIN R, STERMAN MB: *A Manual for Standardized Scoring of Sleep and Waking in the Adult Cat*. Brain Information Service / Brain Research Institute. Los Angeles, 1981.
78. VANNI-MERCIER G, SAKAI K, JOUVET M: Carbachol microinjections in the mediodorsal pontine tegmentum are unable to induce paradoxical sleep after caudal pontine and prebulbar transections in the cat. *Neurosci Lett*, 130:41-45, 1991.
79. VANNI-MERCIER G, SAKAI K, LIN JS, JOUVET M: Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch Ital Biol*, 127:133-164, 1989.
80. VIVALDI E, MCCARLEY RW, HOBSON JA: Evocation of desynchronized sleep signs by chemical microstimulation of the pontine brainstem. En: J A Hobson, M A B Brazier (eds). *The Reticular Formation Revisited*. Raven Press, Nueva York, 513-529, 1980.
81. VON EULER C, MARTTILA I, REMMERS JE, TRIPPENBACH J: Effects of lesions in the parabrachial nucleus on the mechanisms for central and reflex termination of inspiration in the cat. *Acta Physiol Scand*, 96:324-337, 1976.
82. YAMAMOTO K, MAMELAK A N, QUATTROCHI JJ, HOBSON JA: A cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: locus of sensitive region. *Neuroscience*, 39:279-293, 1990.
83. YAMAMOTO K, MAMELAK AN, QUATTROCHI JJ, HOBSON JA: A cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: spontaneous and drug-induced neuronal activity. *Neuroscience*, 39:295-304, 1990.