

## Efectos de la administración aguda de agonistas GABAérgicos y moduladores alostéricos positivos del receptor GABA<sub>A</sub>/Bz/Cl<sup>-</sup> sobre el sueño nocturno de voluntarios sanos

Gustavo Luna Villegas,<sup>1,3</sup> Francisca Ma. Vera F,<sup>2</sup> José Francisco Navarro H,<sup>2</sup> Augusto Fernández-Guardiola<sup>1,3</sup>

### Summary

According to classical theories, the sleep-wakefulness cycle is controlled by three major transmitters, 5-hydroxytryptamine, norepinephrine and acetylcholine. There is an increasing evidence that  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) may also act either together with classical transmitters or have a specific role of its own. We have carried out a placebo-controlled, double-blind study to investigate the role of GABA in sleep organization. The results of positive direct and allosteric modulation of GABA<sub>A</sub>-Benzodiazepine receptor (GABA<sub>A</sub>-BZR) by single oral doses of several exogenous ligands which show high affinity for the GABA binding site ( $\gamma$ -amino- $\beta$ -hydroxybutyrate) or high affinity for the BZ binding site (classical benzodiazepine, cyclopyrrolone, imidazopyridine), administered to ten healthy normal volunteers are presented. The data show that the effects of accentuation of GABAergic tone upon nocturnal sleep can be analyzed on the basis of the increase of stage 2 (induced by all of the ligands, excluding imidazopyridine) and decreases of delta sleep proportions (provoked only by benzodiazepine and  $\gamma$ -amino- $\beta$ -hydroxybutyrate). The participation of GABA<sub>A</sub>-BZR in paradoxical sleep mechanisms is suggested by an increase in the prolongation of the first REM sleep period provoked by  $\gamma$ -amino- $\beta$ -hydroxybutyrate. Our study indicates that the pharmacologically-induced sleep changes depend on both the specific chemical structure of the GABA<sub>A</sub>-BZR-related drug and the subunit composition of the receptor. It is important to investigate whether these compounds act by merely triggering a series of preprogrammed neuronal processes which ultimately give rise to sleep, or participate as crucial mediators in the final common pathway leading to sleep.

### Resumen

Con la intención de evaluar la participación de la neurotransmisión GABAérgica en la regulación del ciclo sueño-vigilia, se describen las modificaciones en la organización del sueño nocturno de 10 voluntarios sanos, producidas por la administración de dosis orales únicas de varios ligandos exógenos del complejo supramolecular GABA<sub>A</sub>/Benzodiazepinas/Cl<sup>-</sup> ( $\gamma$ -amino- $\beta$ -hidroxibutirato (GABOB), una benzodiazepina clásica, una ciclopirrolona, una imidazopiridina y un placebo). El GABOB, la benzodiazepina y la ciclopirrolona mostraron un típico efecto GABAérgico sobre el sueño al incrementar la proporción de la fase 2; sólo el GABOB y la benzodiazepina disminuyeron la proporción del sueño delta, mientras que la ciclopirrolona no la modificó. Por el contrario, la imidazopiridina decrementó la proporción de la fase 2 y aumentó el sueño delta, lo que sugiere la interacción con otros sistemas neurotransmisores, tales como el de la acetilcolina. Aunque la proporción del sueño MOR se mantuvo inalterado durante todos los tratamientos, el GABOB prolongó el primer periodo de esta fase, lo que sugiere una

<sup>1</sup> Instituto Mexicano de Psiquiatría. División de Investigaciones en Neurociencias. Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco 14370, México, D.F.

<sup>2</sup> Facultad de Psicología. Area de Psicobiología, Universidad de Málaga, España.

<sup>3</sup> Facultad de Psicología. UNAM.

participación del sistema GABAérgico en los mecanismos del sueño MOR. Es posible que este tipo de ligandos posea un potencial terapéutico para los desórdenes del sueño que acompañan a varios trastornos neurológicos y neuropsiquiátricos en los cuales se encuentran disminuidos los niveles centrales de GABA.

## Introducción

El ciclo sueño-vigilia está controlado por los sistemas neurotransmisores de la acetilcolina y de las aminas biógenas<sup>25,26,27</sup> Sin embargo, conforme aparecen más neurotransmisores y neuromoduladores resulta evidente que los medios neuroquímicos que regulan dicho ciclo, aunque seguramente limitados en número, aún no se identifican por completo.

Desde hace mucho tiempo, existe una serie de evidencias de que el ácido  $\gamma$ -amino-butírico (GABA) también puede actuar junto con el anterior grupo de transmisores clásicos, o desempeñar un papel específico por sí mismo, en el control del ciclo sueño-vigilia.

Por definición, el GABA se relaciona con la generación de "actividad sincronizada inhibitoria".<sup>45</sup> Se ha demostrado que los husos de sueño, ciertas clases de ondas delta y la actividad theta en los roedores se producen por la sincronización de potenciales despolarizantes con una onda de larga duración de la inhibición postsináptica.<sup>6,18,44</sup> Asimismo, se sabe que la liberación de GABA endógeno desde la corteza cerebral es mayor durante el sueño que durante la vigilia<sup>22</sup> y que se reduce por la estimulación de la formación reticular del tallo cerebral.<sup>23</sup>

Una sola dosis alta de ácido GABA  $\gamma$ -vanílico o GABA  $\gamma$ -acetilénico incrementa los niveles de GABA cerebral y permanecen así durante 24 h, produce hipersincronización EEG y somnolencia y prolonga la duración de la anestesia provocada por ketamina.<sup>45, 61</sup> Es probable que tal efecto esté mediado por una acción postsináptica inhibitoria sobre los receptores de GABA en el globo pálido.<sup>45</sup>

Varios trastornos neurológicos y neuropsiquiátricos tales como la epilepsia, la Corea de Huntington, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la esquizofrenia y la depresión, se han asociado con un decremento en los niveles de GABA en el SNC.<sup>11,12,14,51,55</sup> A pesar de que la organización del sueño en varios de estos síndromes está claramente perturbada y constituye una de las principales quejas de algunos pacientes,<sup>20,28,67</sup> se desconoce si la alteración en el sistema GABAérgico se relaciona con los trastornos del sueño en estas patologías.

El tratamiento de la Corea de Huntington con baclofén, un derivado lipofílico del GABA, produce somnolencia en los pacientes.<sup>1</sup> Los intentos para utilizar el GABA en los ensayos clínicos fracasan debido a que se

requieren dosis extremadamente altas para forzarlo a cruzar la barrera hematoencefálica.<sup>33,41</sup> Se ha ensayado una alternativa experimental con las pirrolidonas (derivados y prodrogas del GABA), que son más lipofílicas que el GABA y penetran fácilmente al SNC. Prolongan la duración del sueño inducido con pentobarbital sódico y poseen propiedades antiamnésicas en los ratones.<sup>47,60</sup> Sin embargo, también es posible que estos derivados actúen sin afectar al sistema GABAérgico.<sup>32</sup> Otros estudios han sugerido que su principal mecanismo farmacológico de acción es una perturbación aberrante de la estructura de las membranas.<sup>50</sup>

También se conocen las propiedades hipnóticas tanto del ácido hidrazinopropiónico, un análogo estructural del GABA,<sup>65</sup> como del muscimol, un agonista GABAérgico.<sup>62</sup> La melatonina también posee la capacidad de inducir y modificar el sueño.<sup>4,9,13,19,21,43</sup> La administración tópica de esta hormona en el hipotálamo, induce el sueño en los gatos.<sup>38</sup> Estos efectos probablemente están mediados por un incremento del GABA.<sup>3</sup>

Existen células inmunoreactivas al GABA y una zona densa de fibras GABAérgicas en la región preóptica y en la zona posterior ventrolateral en el hipotálamo del gato. Los sistemas GABAérgicos hipotalámicos intervienen en la regulación del sueño, ya que la destrucción específica de los cuerpos celulares de la región preóptica, induce insomnio de larga duración en el gato. Por el contrario, la inyección bilateral de muscimol en el hipotálamo ventrolateral posterior de esos animales insomnes, provoca la reaparición del sueño lento y del sueño paradójico.<sup>31</sup>

Existe un ritmo de los niveles de GABA en el hipotálamo y en el tálamo de la rata, el cual alcanza un pico durante la noche.<sup>15</sup> El núcleo supraquiasmático contiene neuronas responsivas al GABA y a los ansiolíticos de tipo benzodiazepínico aplicados exógenamente, que influyen así en el control central de los ritmos circadianos.<sup>34</sup>

Por otra parte, se ha relacionado a la asimetría interhemisférica de la actividad eléctrica cerebral observada durante el sueño NREM en sujetos normales, con un desequilibrio del sistema GABAérgico cerebral.<sup>45</sup> Aunque no puede precisarse si hay alguna lateralización cerebral del contenido de GABA, existe evidencia temprana de que el volumen de una fuente neuronal GABAérgica tan importante como es el globo pálido,<sup>29,42</sup> es mayor en el lado derecho del cerebro.<sup>49</sup>

El principal receptor por medio del cual el GABA produce sus efectos es el complejo GABA<sub>A</sub>/Benzodiazepi-

nas/ionóforo de Cl<sup>-</sup>. La biología molecular demuestra que existen múltiples subunidades que componen este complejo supramolecular. Esto explica la existencia de diversos ligandos de la fracción receptora de benzodiazepinas (BZ) que, sin embargo, no pertenecen a esta familia farmacológica, como la acción directa de los neuroesteroides sobre la fracción receptora de GABA, además del muscimol y la isoguvacina. Así, se han desarrollado los denominados hipnóticos de la tercera generación (principalmente imidazopiridinas y ciclopirononas), las β-carbolinas y otros agonistas inversos, que no poseen potencial terapéutico debido a sus propiedades convulsivas y ansiógenas, pero constituyen agentes químicos útiles para el estudio de los receptores GABA<sub>A</sub> en el SNC.<sup>35</sup>

Entre los derivados del GABA, como el β-sulfonil-GABA (efectivo como anticomicial), el β-fenil-GABA (útil en el tratamiento de los movimientos involuntarios) y algunas pirrolidinonas,<sup>47,48,60</sup> destaca el ácido γ-amino-β-hidroxi-butírico (GABOB), ya que es un constituyente normal del cerebro que desempeña un papel esencial en la regulación de los procesos excitadores del SNC y se considera que es el agente GABAérgico fisiológico del organismo, además de que puede administrarse oralmente.<sup>48</sup>

Aunque las evidencias acerca del papel del GABA en la regulación del ciclo sueño-vigilia tienen un amplio antecedente, la proporción de estudios dedicados a precisar su participación en dicha función es comparativamente menor a aquellos relacionados con las teorías monoaminérgicas y colinérgicas del sueño. El objetivo del presente trabajo es el de evaluar los efectos de la modulación exógena directa o alostérica del receptor GABA<sub>A</sub>/BZ sobre la organización del sueño nocturno, y determinar si dependen tanto de la molécula administrada como de la fracción receptora implicada. Se describen las modificaciones en la organización del sueño, secundarias a la administración oral aguda de diversos ligandos exógenos del receptor GABA<sub>A</sub>/BZ en voluntarios sanos.

## Material y métodos

Se seleccionó una muestra de 10 voluntarios sanos, estudiantes universitarios, de lateralidad diestra, con edades entre 20 y 30 años. En este intervalo de edades, el sueño del ser humano sano se encuentra ontogénicamente estabilizado.<sup>24,57</sup> En la entrevista previa a su inclusión en el estudio, conocieron los objetivos generales del mismo, excepto las restricciones metodológicas impuestas por el diseño empleado. Se excluyó a los que informaron tener alteraciones del ciclo sueño-vigilia, cambios de horario de trabajo o estudio y antecedentes neuropato-

lógicos, y a los que habían recibido cualquier tratamiento farmacológico (especialmente con sustancias psicotrópicas) dentro de los 3 meses anteriores a que se iniciara el estudio. Se les indicó mantener constante su horario habitual de sueño y firmaron su consentimiento informado para cumplir con las condiciones del estudio, al término del cual fueron económicamente gratificados.

Los ligandos en dosis mínimas equipotentes fueron:

- a) ácido γ-amino-β-hidroxi-butírico (*GABOB*, gamibetal 500 mg);
- b) una benzodiazepina (*BDZ*, diazepam 10 mg);
- c) una imidazopiridina (*IPD*, zolpidem 10 mg);
- d) una ciclopironona (*CPL*, zopiclone 7.5 mg);
- e) placebo (*PLA*).

Las sustancias se suministraron en forma de doble ciego y sólo hasta que finalizó el estudio se conoció su identidad. Cada sujeto (bloque) recibió 2 ligandos diferentes, de acuerdo con el siguiente cuadro Youden extendido:<sup>8,30</sup>

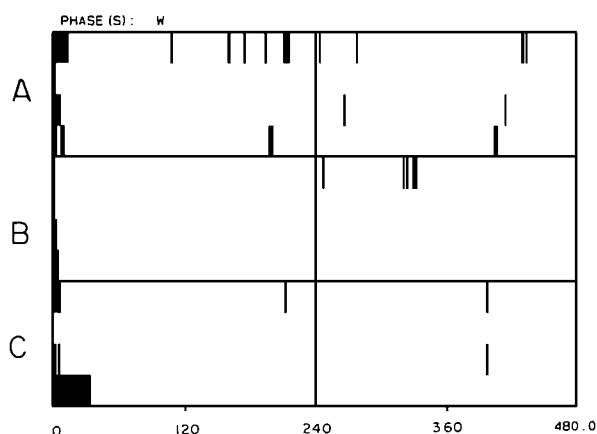
Bloque	Ligando 1	Ligando 2
(1)	BDZ	CPL
(2)	CPL	PLA
(3)	IPD	GABOB
(4)	GABOB	BDZ
(5)	PLA	IPD
(6)	BDZ	IPD
(7)	CPL	GABOB
(8)	IPD	CPL
(9)	GABOB	PLA
(10)	PLA	BDZ

Este diseño posee las ventajas de que permite evaluar los cinco tratamientos empleando un procedimiento de bloqueo que no requiere el uso de bloques completos y permite aislar la variación debida tanto a los bloques (sujetos) como a las columnas (secuencia de tratamiento).

El período experimental abarcó 6 noches consecutivas de cada sujeto, de acuerdo con la siguiente secuencia:

Noche 1	Noche 2	Noche 3	Noche 4	Noche 5	Noche 6
Habitua- ción	Línea Base	Cápsula Ligando 1	Cápsula Placebo (Lavado)	Cápsula Ligando 2	Cápsula Placebo (Lavado)

Los sujetos fueron sometidos a la polisomnografía estándar de toda la noche. Ingerieron las cápsulas en el laboratorio a las 22:00 h, media hora antes de iniciar el registro nocturno (22:30 h), el cual terminó a las 06:30 h del día siguiente (tiempo total de registro: 8 h). Los re-



**Figura 1.** Hipnograma de coincidencia que muestra los cambios en la la vigilia inicial (latencia del sueño) y en la proporción de los despertares nocturnos durante el tratamiento con la benzodiacepina. Cada renglón representa un sujeto; la línea vertical divide la noche por la mitad. A.- Línea base; B.- Tratamiento; C.- Lavado (placebo). En el sujeto 4 se observó un rebote de vigilia inicial durante el lavado de la sus-tancia (C; en el eje x se muestra el tiempo de registro, en minutos).

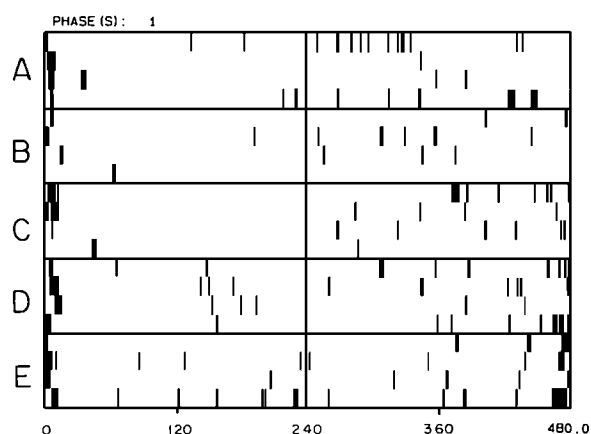
gistros polisomnográficos se evaluaron visualmente de acuerdo con los criterios internacionales.<sup>53</sup> Se elaboraron hipnogramas de coincidencia\* para cuantificar la latencia del sueño y de las distintas fases del mismo, y para valorar las proporciones de la vigilia, de la fase 1, de la fase 2, del sueño delta (fase 3 + fase 4) y del sueño MOR, durante cada una de las condiciones experimentales (línea base, tratamiento y lavado).

## Resultados

La única droga que disminuyó la latencia del sueño fue la BDZ (fig. 1). Todos los ligandos del receptor de BZ (diazepam, zopiclone y zolpidem) disminuyeron la proporción de despertares nocturnos; el PLA indujo una disminución no significativa de la vigilia durante la noche, en tanto que el ligando del receptor de GABA (GABOB) no modificó este parámetro.

Con excepción del GABOB y del PLA, los demás fármacos disminuyeron la proporción de la fase 1, sobre todo durante las primeras cuatro horas del sueño. El análisis cronobiológico de la evolución de esta fase durante la noche, mostró que la cantidad de episodios de la fase 1 se incrementó aproximadamente 3 horas después de la administración del GABOB, aunque la proporción de la misma no cambió respecto al nivel de base (fig. 2).

\* Se utilizó el programa desarrollado por R. Fernández-Mas, de la División de Investigaciones en Neurociencias, IMP.



**Figura 2.** Disminución en el porcentaje de la fase 1 del sueño durante el tratamiento con los ligandos exógenos del receptor de BZ (A.- benzodiacepina (diazepam 10 mg); B.- ciclopirlona (zopiclone 7.5 mg); C.- imidazopiridina (zolpidem 10 mg); D.- GABOB (500 mg); E.- placebo. En el panel D puede notarse la presencia de fase 1 aproximadamente 3 h después de la aplicación del GABOB (ligando de la subunidad GABA). En el eje x se muestra el tiempo de registro, en minutos.

La BDZ, la CPL y el GABOB provocaron un aumento en el porcentaje de la fase 2; en contraste, la IPD produjo una disminución de la misma, mientras que el PLA no la modificó (fig. 3).

Excluyendo a la CPL y al PLA, los demás tratamientos modificaron la cantidad de sueño delta, aunque en direcciones opuestas: mientras que la BDZ y el GABOB la disminuyeron, la IPD la incrementó (fig. 3).

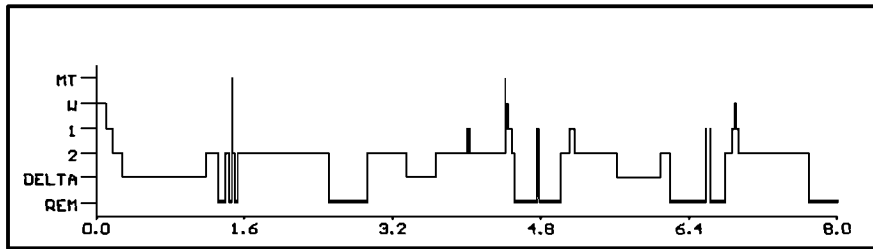
Ninguno de los ligandos modificó la proporción total de sueño MOR. Sin embargo, la duración del primer periodo de esta fase se prolongó al suministrar GABOB (fig. 4), mientras que la IPD indujo un incremento en la latencia del mismo (fig. 5)

En cuanto al periodo de lavado de cada sustancia, se observó un retorno al nivel de base en la latencia del sueño durante el lavado de la BDZ y la IPD; sólo se observó un caso de rebote de vigilia inicial durante el lavado de la BDZ (fig. 1).

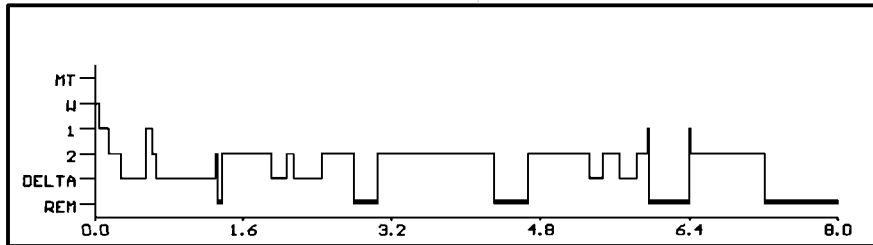
La proporción de intromisiones de vigilia durante el sueño persistió disminuida a lo largo del lavado de la BDZ (fig. 1), mientras que existió un rebote de estos episodios durante el postratamiento con la IPD (primera mitad de la noche) y de la CPL (segunda mitad de la noche) (fig. 6). No se observaron cambios durante el lavado de GABOB ni de PLA.

La proporción de fase 1 se mantuvo disminuida durante el lavado de la BDZ; en cambio, hubo un rebote de esta fase durante los lavados de la CPL y de la IPD, principalmente durante la primera parte de la noche (fig. 6). No se observaron cambios en esta fase durante el postratamiento con GABOB o con PLA.

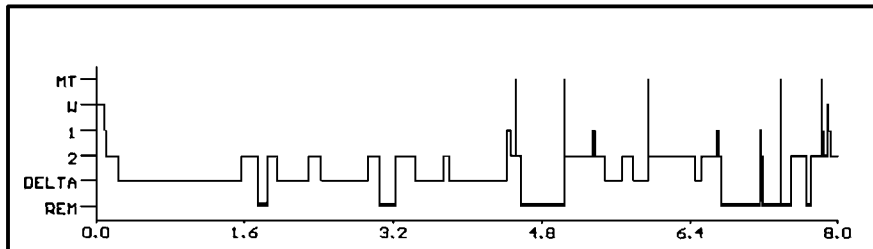
**LINEA BASE**



**BENZODIACEPINA (Diazepam, 10 mg)**



**IMIDAZOPIRIDINA (Zolpidem, 10 mg)**



**Figura 3.** Comparación de los cambios en la organización del sueño producidos por la administración, a un mismo sujeto, de una benzodiacepina clásica y un hipnótico no benzodiacepínico (en el eje x se muestra el tiempo de registro, en horas).

El porcentaje de la fase 2 continuó siendo superior al nivel basal durante el lavado de la BDZ, y retornó a los valores de base durante el lavado de los demás ligandos; no se observaron cambios en esta fase durante el postratamiento del PLA.

Respecto al sueño delta, sólo disminuyó durante el lavado de la BDZ. Se observó una fragmentación de los periodos de sueño delta durante el lavado de la IPD (fig. 6); esto no modificó la proporción de la fase.

La proporción de sueño MOR se mantuvo inalterada durante el lavado de todos los ligandos. No obstante, se apreció un incremento en la latencia del sueño MOR durante el lavado de la IPD, en apariencia como un efecto progresivo al tratamiento con esta droga (fig. 5). No se modificó ningún otro parámetro de esta fase durante el lavado de ninguno de los tratamientos.

**Discusión**

El presente estudio indica que el perfil de actividad de los diferentes ligandos sobre la organización del sueño varía como una función de la molécula suministrada, y depende de la fracción receptora involucrada.

La acción común del tratamiento con los ligandos del receptor de BZ se resume en una notable disminución de las proporciones de la vigilia y la fase 1 del sueño. La capacidad del GABA para producir sincronización EEG, disminuir el nivel de alerta y provocar sueño no escapa a la interacción neuroquímica con otros transmisores, sobre todo al ser potenciada por estos ligandos. Es probable que la disminución en la vigilia resulte de una acción combinada de la transmisión GABAérgica con la dopaminérgica, como consecuencia de las acciones de

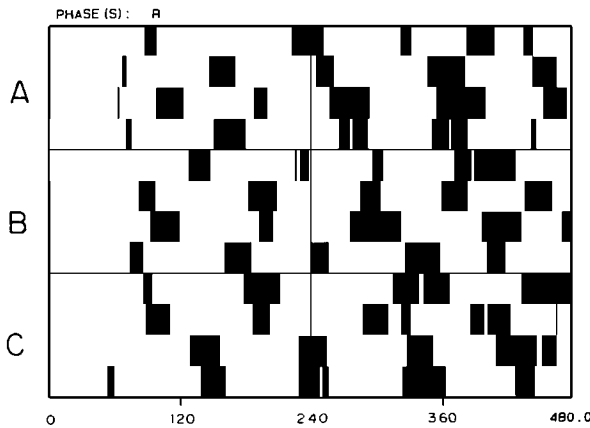


Figura 4. Hipnograma de coincidencia que muestra la forma en que el GABOB prolongó el primer periodo del sueño MOR (la misma descripción de la figura 1).

los ligandos sobre la fracción receptora de BZ del complejo  $GABA_A/BZ$ .<sup>2,10,39,52,54</sup>

La ausencia de modificaciones en la proporción de la vigilia y de la fase 1 durante el tratamiento con el ligando de la fracción de GABA, puede deberse a que el GABOB en la dosis empleada no fue suficiente para superar un umbral fisiológico de las sinapsis GABAérgicas, el cual, una vez rebasado, resulta en la combinación de las acciones de otros transmisores; los ligandos del receptor de BZ podrían provocar alguna de tales combinaciones al amplificar alostéricamente la actividad de la fracción receptora de GABA, con las consecuentes modificaciones en la vigilia y la somnolencia. No obstante, la abrupta reaparición de la fase 1, aproximadamente 3 horas después de la administración del GABOB, puede relacionarse con el hecho de que se metaboliza completamente en 3 o 4 horas.<sup>58</sup>

La transmisión GABAérgica puede ejercer una acción directa y de corta duración sobre la producción de la fase 1; si los cambios en esta fase son persistentes, puede sospecharse que hay interacción con otros sistemas neuroquímicos.

El incremento en la proporción de la fase 2 producido por la BDZ, la CPL y el GABOB puede ser considerado GABAérgico por naturaleza. Es bien sabido que la densidad de los husos de sueño se incrementa por la modulación GABAérgica de los hipnóticos benzodiazepínicos y no benzodiazepínicos,<sup>5</sup> aunque las imidazopiridinas son una excepción. De hecho, en nuestro estudio encontramos una disminución de esta fase durante el tratamiento con la IPD. Es probable que la acción de los ligandos que incrementaron la proporción de la fase 2 facilite la actividad talámica y promueva así la aparición de los husos corticales.<sup>7</sup>

Se ha sugerido que hay una interacción dinámica entre los mecanismos generadores de los husos de sueño y

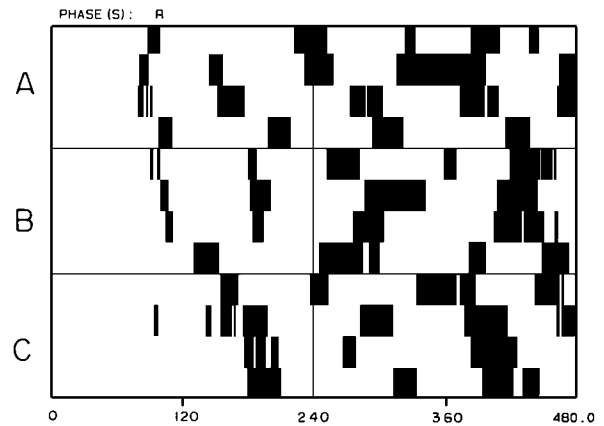


Figura 5. Cambios en la latencia del sueño MOR que acompañan al tratamiento con la imidazopiridina (la misma descripción de la figura 1)

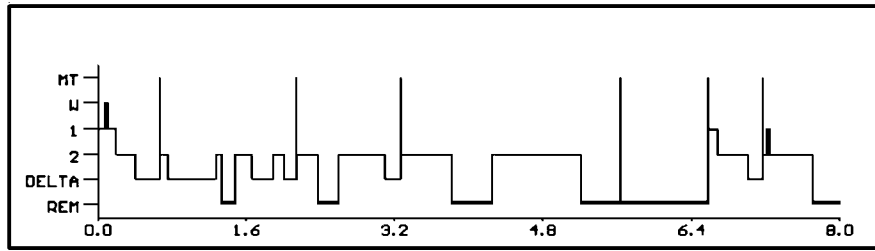
aquellos que generan ondas agudas del vértex, complejos K y ondas delta.<sup>46</sup> Los efectos recíprocos de los ligandos sobre la proporción de la fase 2 y el sueño delta (incremento de la fase 2 y disminución del sueño delta por la BDZ y el GABOB; lo inverso para la IPD), pueden ser consecuencia de una alteración en el equilibrio de estos mecanismos y también involucrar a otros transmisores.

De los dos ligandos no benzodiazepínicos, la CPL no afectó el sueño delta, y la IPD lo incrementó, a diferencia de la BDZ y del GABOB, que lo disminuyeron. Hay una relación entre las sinapsis GABAérgicas y las colinérgicas.<sup>36</sup> Es probable que la potencia de la IPD sea capaz de disminuir la eficacia del sistema aferente cortical colinérgico, lo que resulta en un incremento en las ondas lentas,<sup>7,56,64</sup> a la vez que mejora la eficacia de las aferencias colinérgicas talámicas, lo cual suprime la aparición de los husos en la corteza.<sup>7</sup>

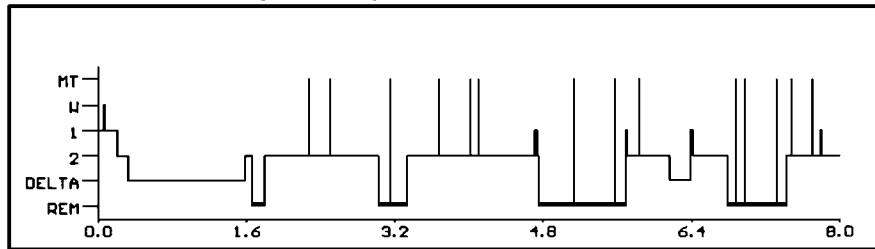
Aunque la proporción del sueño MOR no se modificó en ninguna circunstancia, nuestro hallazgo del alargamiento del primer periodo de sueño MOR durante el tratamiento con GABOB coincide con observaciones similares de otros autores;<sup>37</sup> pero a diferencia de ellos, nosotros no observamos cambios en la latencia de este periodo. Ya se ha observado que el butirato de sodio induce sueño paradójico en el gato.<sup>40</sup> Es probable que la transmisión GABAérgica participe, por lo menos, en los mecanismos de mantenimiento del sueño MOR. Asimismo, es probable que el rebote de la vigilia y de la fase 1 en la primera parte de la noche contribuya al desplazamiento del primer periodo del sueño MOR durante el lavado de la IPD.

El hecho de que la cuota de los periodos MOR se mantenga constante, parece apoyar las sugerencias de que este tipo de sueño funciona como un mecanismo protector que evita que el cerebro permanezca en el es-

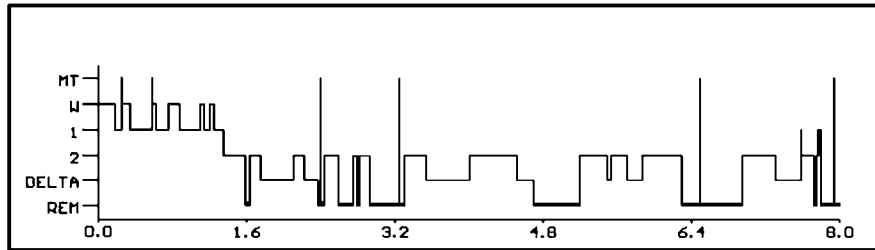
**LINEA BASE**



**IMIDAZOPIRIDINA (Zolpidem 10 mg)**



**LAVADO (Placebo)**



**Figura 6.** Hipnograma representativo de los cambios en la organización del sueño provocados por la imidazopiridina. Ocurrió un rebote de vigilia en las primeras horas de la noche durante el lavado; la ciclopirlona (no mostrada) provocó este fenómeno durante la segunda parte de la noche. El rebote de la fase 1 durante la primera mitad de la noche de postratamiento fue común a ambos ligandos no benzodiazepínicos del receptor de BZ. El sueño delta se fragmentó durante el lavado de la imidazopiridina.

tado deprimido del SNC, o sea, en el sueño de ondas lentas, lo que asegura el retorno a la vigilia consciente.<sup>66</sup>

Los resultados obtenidos durante el periodo de lavado pueden atribuirse a la diferente farmacocinética de los ligandos. Así, los efectos de la BDZ persisten con menor magnitud que durante el tratamiento debido a que utilizamos una sustancia de vida media larga (diazepam). El rebote de la vigilia y de la fase 1, observado durante el postratamiento, se explica en función de la vida media corta de los ligandos no benzodiazepínicos. Debe destacarse que además del rápido metabolismo del GABOB, es probable que la escasa interacción de la dosis que empleamos de esta sustancia con otros transmisores tampoco propicie ningún fenómeno compensatorio durante el periodo de su lavado.

Aunque el propósito original del presente estudio fue incrementar los niveles de GABA en el SNC, es muy posible que también resultaran afectados otros mecanismos neuroquímicos. En apariencia, el único sistema aminérgico que no muestra cambios apreciables en respuesta a la administración de  $\gamma$ -hidroxibutirato es el noradrenérgico.<sup>16,17,59,63</sup>

En conclusión, la modulación exógena del receptor GABA<sub>A</sub>/Bz provoca cambios en la organización del sueño en función de la fracción receptora involucrada. Mientras que los efectos de los ligandos benzodiazepínicos y no benzodiazepínicos abarcan la vigilia y el sueño NoMOR, el ligando de la fracción de GABA origina cambios más específicos y restringidos sobre el sueño NoMOR (suprime temporalmente la fase 1, aumenta la

fase 2 y disminuye el sueño delta). Finalmente, a pesar de la solidez del sueño MOR ante la acción de estos ligandos, es probable que la transmisión GABAérgica participe indirectamente en los mecanismos que inician este estadio, y también de manera directa en aquellos que lo mantienen. Es posible que este tipo de ligandos posea un potencial terapéutico para combatir los trastornos del sueño que acompañan a varios trastornos neurológicos y neuropsiquiátricos en los cuales se encuentran disminuidos los niveles centrales de GABA.

### Agradecimientos

*Este proyecto fue financiado conjuntamente por el Instituto Mexicano de Psiquiatría (Clave 3350), y el Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS-UNAM). La participación de los Drs. F.M. Vera F. y J.F. Navarro H. fue propiciado por la Universidad de Málaga. Se agradece el apoyo técnico de los Sres. Fernando Jiménez, Feliciano Camacho, Carlos Camacho e Isidoro Camacho. Las ilustraciones se deben al Sr. Raúl Cardoso.*

### Referencias

- ANDEN N, DALEN J, JOHANSSON B: Baclofen and lithium in Huntington's Chorea. *Lancet*, 2:93, 1973.
- ANDEN N, STOCK G: Inhibitory effect of gamma-hydroxybutyric acid and gamma-aminobutyric acid on the dopamine cells in the substantia nigra. *Naunyn Schmied Arch Pharmacol*, 279:89-92, 1973.
- ANTON-TAY F: Pineal-brain relationships. En: G Wolstenholme, J Knight (eds). *The Pineal Gland*. A Ciba Foundation Symposium London, Churchill Livingstone, 1971.
- ANTON-TAY F, DIAZ JL, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: On the effect of melatonin upon human brain. Its possible therapeutic implication. *Life Sci*, 10:841-850, 1971.
- AZUMI K, SHIRAKAWA S: Characteristics of spindle activity and their use in evaluation of hypnotics. *Sleep*, 5:95-105, 1982.
- BALL GJ, GLOOR P, SCHANE N: The cortical electromyophysiology of pathological delta waves in the electroencephalograms of cats. *Electroenceph clin Neurophysiol*, 43:346-361, 1977.
- BUSZAKI G, BICKFORD R, PONOMAREFF G, THAL LJ, MANDEL R, GAGE FH: Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. *J Neurosci*, 8:4007-4026, 1988.
- COCHRAN W, COX G: *Experimental Designs*. John Wiley & Sons, Nueva York, 1957.
- CRAMER H, RÜDOLPH J, CONSRUCH V, KANDEL K: On the effects of melatonin on sleep and behavior in man. *Adv Biochem Psychopharmacol*, 11:187-191, 1974.
- DZOLJIC M, GODSCHALK M: *The Role of Different Dopamine Receptors in Electrophysiological Alertness*. Waking and Sleeping, 2:153-155, 1978.
- ENNA S: GABA and neuropsychiatric disorders. *J Can Sci Neurol*, 7:257-259, 1980.
- ENNA S, STERN L, WASTEK G, YAMAMURA H: Neurobiology and pharmacology of Huntington's disease. *Life Sci*, 20:205-212, 1977.
- FERNANDEZ-GUARDIOLA A, ANTON-TAY F: Modulation of subcortical inhibitory mechanisms of melatonin. *Adv Behav Biol*, 10:273-287, 1974.
- FREY H-H, POPP C, LÖSCHER W: Influence of inhibitors of the high affinity GABA uptake on seizure thresholds in mice. *Neuropharmacology*, 18:581-590, 1979.
- FRIEDMAN A, PIEPHO R: Effect of photoperiod reversal on twenty-four hour patterns for GABA levels in rat brain. *Int J Chronobiol*, 5:445-458, 1978.
- GESSA G, VARGIU I, CRABAL F, BOERO G, CABONE F, GAMBA R: Selective increases of brain dopamine induced by gamma-hydroxy-butyrate. *Life Sci*, 5:1921-1930, 1966.
- GIARMAN NJ, SCHMIDT KF: Some neurochemical aspects of the depressant action of 8-butylactone on the central nervous system. *Br J Pharm*, 20:563-568, 1963.
- GUSELNIKOV VI, SUPIN A: *Rhythmical Activity of the Brain*. Moscow University Press, Moscú, 1968.
- HISHIKAWA Y, CRAMER H, KUHL W: Melatonin induced sleep in young chickens. A behavioral and electrographic study. *Exp Brain Res*, 7:84-94, 1969.
- HOEPFNER J, GARRON D, CARTWRIGHT R: Self-reported sleep disorder symptoms in epilepsy. *Epilepsia*, 25:434-437, 1984.
- HOLMES S, DUGDEN D: Effects of melatonin on sleep and neurochemistry in the rat. *Br J Pharmacol*, 76:95-101, 1982.
- JASPER H, KAHN R, ELLIOT K: Amino acids released from the cerebral cortex in relation to its state of activation. *Science*, 147:1448-1449, 1965.
- JASPER H, KOYAMA I: Rate of release of amino acids from cerebral cortex in cat as affected by brainstem and thalamic stimulation. *Can J Physiol Pharmacol*, 47:889-905, 1969.
- JOHNS M: Sleep and hypnotic drugs. *Drugs*, 9:448-478, 1975.
- JOUVET M: Neurophysiology of the states of sleep. *Physiol Rev*, 47:117-177, 1967.
- JOUVET M: The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. En: M Jouvet, G Moruzzi. (ed.) *Neurophysiology and Neurochemistry of Sleep and Wakefulness*. Heidelberg, Nueva York, 167-307, 1972.
- JOUVET M: The role of monoaminergic neurons in the regulation and function of sleep. En: O Petre-Quadens, J Schlag (eds). *Basic Sleep Mechanisms*. Academic Press, Nueva York, 207-232, 1974.
- KELLAWAY P: Sleep and epilepsy. *Epilepsia*, (Suppl. 26):S15-S30, 1985.
- KIM JS, BAK IJ, HASSLER R, OKADA Y: Role of gamma-aminobutyric acid (GABA) in the extrapyramidal motor system. 2. Some evidence for the existence of GABA-rich striatonigral neurons. *Exp Brain Res*, 14:95-104, 1971.
- KIRK R: *Experimental Design: Procedures for the Behavioral Sciences*. Brooks/Cole, California, 1968.
- KITAHAMA K, SALLANON M, OKAMURA H, GEFFARD M, JOUVET M: Cellules présentant une immunoréactivité au GABA dans l'hypothalamus du chat. *CR Acad Sci Paris*, 308:507-511, 1989.
- KROGSGAARD-LARSEN P: gamma-Aminobutyric acid agonists, antagonists, and uptake inhibitors. Design and therapeutic aspects. *J Med Chem*, 24:1377-1383, 1981.
- KURIYAMA K, SZE P: Blood-brain barrier to <sup>3</sup>H-gamma-aminobutyric acid in normal and amino oxycetic acid-treated animals. *Neuropharmacology*, 10:103-108, 1971.
- LIU S, SHIBATA S, ALBERS H, UEKI S: Effects of GABA and anxiolytics on the single unit discharge of suprachiasmatic neurons in rat hypothalamic slices. *Brain Res Bull*, 25:103-107, 1990.
- LÜDDENS H, WISDEN W: Function and pharmacology of multiple GABA<sub>A</sub> receptor subunits. *Trends Pharmacol Sci*, 12:49-51, 1991.
- MAITRE M, RUMIGNY JF, CASH C, MANDEL P: Subcellular distribution of gamma-hydroxybutyrate binding sites in rat brain. Principal localization in the synaptosomal fraction. *Biochem Biophys Res Commun*, 110:262-265, 1983.



37. MAMELAK M, ESCRUI JM, STOKAN O: The effects of gamma-hydroxybutyrate on sleep. *Biol Psychiatry*, 12:273-288, 1977.
38. MARCZYNSKY T, YAMAGUCHI N, LING G, GRO-DZINSKA L: Sleep induced by the administration of melatonin (5-methoxy N-acetyltryptamine) to the hypothalamus in unrestrained cats. *Experientia*, 10:435-437, 1964.
39. MATSUI Y, KAMIOKA T: Cataleptic and anticataleptic effects of muscimol and gabaculina injected into globus pallidus and substantia nigra, and interactions with haloperidol and benzodiazepines. *Naunyn Schmied Arch Pharmacol*, 305:219-225, 1978.
40. MATSUZAKI M, TAKAGI H, TOKIZANE T: Paradoxical phase of sleep: its artificial induction in the cat by sodium butyrate. *Science*, 146:1328-1329, 1964.
41. MAYNERT E, KAJI H: On the relationship of brain  $\gamma$ -aminobutyric acid to convulsions. *J Pharmacol Exp Ther*, 137:114-121, 1962.
42. MCGEER PL, MCGEER EG: The GABA system and function of the basal ganglia: Huntington's disease. En: E Roberts, TN Chase, DB Tower (eds). *GABA in Nervous System Function*. Raven Press, Nueva York, 487-495, 1976.
43. MENDELSON W, GUILLIN J, DAWSON S, LEWY A, WYATT R: Effects of melatonin and propranolol on sleep of the rat. *Brain Res*, 201:240-244, 1980.
44. MYSLOBODSKY M: *Petit Mal Epilepsy: A Search for Precursors of Wave-Spike Discharges*. Academic Press, Nueva York, 1976.
45. MYSLOBODSKY M, MANSOUR R: Hypersynchronisation and sedation produced by GABA-transaminase inhibitors and picrotoxin: Does GABA participate in sleep control? *Waking and Sleeping*, 3:245-254, 1979.
46. NAITOH P, ANTONY-BAAS V, MUZET A, EHRHART J: Dynamic relation of sleep spindles and K-complexes to spontaneous phasic arousal in sleeping human subjects. *Sleep*, 5:58-73, 1982.
47. NAKAMURA J, MIWA T, MORI Y, SASAKI H, SHIBASAKI J: Comparative studies on the anticonvulsant activity of lipophilic derivatives of  $\gamma$ -aminobutyric acid and 2-pyrrolidinone in mice. *J Pharmacobio-Dyn*, 14:1-8, 1991.
48. NISHIMOTO A, OHMOTO T: Experimental and clinical studies on GABA-derivatives. *Jap J Brain Physiol*, 84:3148-3164, 1967.
49. ORTHNER H, SENDLER W: Planimetrische volumetrie am menschlichen gehirnen. *Fortschr Neurol Psychiat*, 43:191-209, 1975.
50. PERLMAN B, GOLDSTEIN D: Membrane-disordering potency and anticonvulsant action of valproic acid and other short-chain fatty acids. *Mol Pharmacol*, 26:83-89, 1984.
51. PERRY T, KISH S, BUCHANAN J, HANSEN S:  $\gamma$ -Aminobutyric-acid deficiency in brain of schizophrenic patients. *Lancet*, 3:237-239, 1979.
52. PYCOCK CJ, HORTON RW, MARSDEN CD: The behavioral effects of manipulating GABA function in the globus pallidus. *Brain Res*, 116:353-359, 1976.
53. RECTHSCHAFFEN A, KALES A: *A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects*. Public Health Service, U. S. Government Printing Office, Washington D.C., 1968.
54. REUBI JC, IVERSEN LL, JESSELL TM: Regulation of GABA release by dopamine in rat substantia nigra. *Adv Biochem Pharmacol*, 19:401-404, 1978.
55. RIBAK C, HARRIS A, VAUGHN J, ROBERTS E: Inhibitory, GABAergic nerve terminals decrease at sites of focal epilepsy. *Science*, 205:211-214, 1979.
56. RIEKKINEN Jr P, SIRVIÖ J, RIEKKINEN P: Relationship between EEG delta power and cortical ChAT content. *Neurosci Res*, 8:12-20, 1990.
57. ROFFWARG H, MUZIO J, DEMENT W: Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle. *Science*, 152:604-618, 1966.
58. ROTH RH, GIARMAN NJ: Gamma-butyrolactone and gamma-hydroxybutyric acid-1: distribution and metabolism. *Biochem Pharmacol*, 15:1333-1348, 1966.
59. ROTH RH, SUHR Y: Mechanisms of gamma-hydroxybutyrate induced increase in brain DOPA amine and its relationship to "sleep". *Biochem Pharmacol*, 19:3001-3012, 1970.
60. SASAKI H, MORI Y, NAKAMURA J, SHIBASAKI J: Synthesis and anticonvulsant activity of 1-acyl-2-pyrrolidinone derivatives. *J Med Chem*, 34:628-633, 1991.
61. SCHECHTER P, TRANIER Y, JUNG M, BÖHLEN P: Audiogenic seizure protection by elevated brain GABA concentration in mice: effects of  $\gamma$ -acetylenic GABA and  $\gamma$ -vinyl GABA, two irreversible GABA-T inhibitors. *Eur J Pharmacol*, 45:319-328, 1977.
62. SCHEEL-KRUGER J, ARNT J, BRAESTRUP C, CHRISTENSEN A, COOLS A, MAGELUND G: GABA-dopaminergic interaction in substantia nigra and nucleus accumbens-relevance to behavioral stimulation and stereotyped behavior. *Adv Biochem Psychopharmacol*, 19:343-345, 1978.
63. SPANO P, NEFF N, COSTA E: Effect of gamma-hydroxybutyrate on the synthesis rate of brain amines. *Trans Amer Soc Neurochem*, 1:69, 1970.
64. STEWART DJ, MACFABE DF, VANDERWOLF CH: Cholinergic activation of the electrocorticogram: role of substantia innominata and effects of atropine and quinuclidinyl benzilate. *Brain Res*, 322:219-232, 1984.
65. VAN GELDER N: The action in vitro of a structural analogue of GABA: Hydrazinopropionic acid. *J Neurochem*, 16:1355-1360, 1969.
66. VERTES R: Brainstem mechanisms of slow-wave sleep and REM sleep. En: WR Klemm, RP Vertes (eds). *Brainstem Mechanisms of Behavior*. John Wiley & Sons, Nueva York, 535-583, 1990.
67. WIEGAND M, MÖLLER A, SCHREIBER W, LAUER C, KRIEG J-C: Brain morphology and sleep EEG in patients with Huntington's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 240:148-152, 1991.