

UNA VIA NEURONAL COLINERGICA HIPNOGENICA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL*

DR. RAÚL HERNÁNDEZ-PEÓN**

LA LARGA controversia histórica entre los investigadores que sostenían que el sueño es un fenómeno pasivo debido a la falta de la actividad cerebral responsable de la vigilia, y aquéllos que propusieron que el sueño es un fenómeno activo antagónico al de vigilia, se ha resuelto recientemente en favor de estos últimos. Dos grupos de datos experimentales apoyan la naturaleza activa de la iniciación y el mantenimiento del acto de dormir. Las observaciones anatómo-patológicas de von Economo (1918) demostraron la existencia de lesiones a nivel del hipotálamo anterior y de la región preóptica en casos de encefalitis letárgica con terminación en insomnio. Estos hallazgos fueron confirmados experimentalmente por Nauta (1946) quien encontró en ratas que secciones en la misma zona diencefálica anterior produjeron también un estado de insomnio fatal. En 1958, la escuela neurofisiológica de Moruzzi en Pisa (Batini, *et al.* 1958) encontró que una sección mediopontina produce un estado persistente de vigilia, lo cual indica la existencia de estructuras hipnogénicas con actividad tónica localizadas en la porción caudal del tallo cerebral. Por otra parte, desde los experimentos pioneros de Hess (1931) que demostraron la inducción de sueño por estimulación eléctrica de una región vecina a la masa intermedia del tálamo, se han reportado numerosas observaciones de sueño experimental inducido por la aplicación de estímulos eléctricos de baja frecuencia a numerosas estructuras corticales y subcorticales (Akimoto *et al.*, 1956; Favale, *et al.*, 1961; Monnier, *et al.*, 1963; Akert, *et al.*, 1952) y aún a nervios cutáneos (Pompeiano y Swett, 1962). Sin embargo, la observación simultánea e independiente de Serman y Clemente (1962) y de

* Trabajo de ingreso a la Academia Nacional de Medicina presentado en la sesión del 27 de octubre de 1965, realizado con una ayuda de los Institutos Nacionales de Salud de los EE. UU. (National Institutes of Health USPH) con el donativo MH-10003-02 y del Ejército de los EE. UU. (U.S. Army) con el donativo DA-ARQ-49-092-65-G62.

** Instituto de Investigaciones Cerebrales, A. C.

Hernández-Peón (1962) de que la estimulación eléctrica de la región preóptica tanto a baja como a alta frecuencia produce la actitud conductual, y el patrón electrocortical de sueño reveló que a pesar de la extensa imbricación de neuronas hipnogénicas y despertadoras en el cerebro, existen zonas hipnogénicas específicas que deben poder ser precisadas con otro método de estimulación más selectivo que el de la estimulación eléctrica masiva e indiscriminada.

Admitiendo el concepto actualmente aceptado de que la transmisión sináptica central es de naturaleza química al igual que en las sinapsis periféricas y en las uniones neuro-efectoras, en 1961 se emprendió un estudio sistemático para localizar las estructuras centrales hipnogénicas utilizando la aplicación localizada intracerebral de microcristales de sustancias químicas, entre las que se encuentran transmisores sinápticos conocidos y agentes que evitan su destrucción enzimática o que bloquean su acción sobre membranas post-sinápticas. En este trabajo se presentará un resumen de los principales resultados obtenidos con varios colaboradores. De dichos datos se deriva un nuevo concepto sobre los mecanismos productores de sueño, el cual es compatible con los datos aparentemente dispersos de la literatura.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se usaron gatos adultos de ambos sexos. Con las precauciones de asepsia necesarias y bajo anestesia con pentobarbital se introdujeron cánulas y electrodos en el cerebro mediante un aparato estereotáxico, y se fijaron al cráneo con acrílico dental. El modelo original de la cánula usada se ha descrito en otro trabajo (Hernández-Peón, *et al.* 1963). Consistió en una aguja doble que mediante un dispositivo especial podía ser descendida por pasos de 1 mm. dentro del cerebro del animal despierto. De esta manera, con una cánula se podía explorar una región de 7 mm. de altura. En un grupo de 33 gatos se implantaron cánulas especiales en la médula espinal. Dichas cánulas estaban soldadas a una placa de acero inoxidable que se atornilló a las apófisis espinosas permitiendo así la inmovilización de 3 vértebras consecutivas. Además, la cánula y la placa se fijaron todavía más a la columna vertebral con acrílico dental. Las regiones exploradas hasta ahora incluyen estructuras corticales y subcorticales en el lóbulo temporal, regiones basales y dorsales corticales del lóbulo frontal, el gyrus cinguli, el tálamo, las regiones septal y preóptica, el hipotálamo, las regiones tegmentales mesencefálica, pontina y bulbar, el cerebelo y los segmentos cervical, torácico y lumbar de la médula espinal. Se implantaron electrodos de acero inoxidable bipolares y multipolares aislados excepto 1 mm. en las puntas, en el bulbo olfatorio, en la formación reticular mesencefálica, en el hipocampo y en la corteza entorrinal. Además, se implantaron electrodos de tornillo en la parte frontal del

cráneo y alrededor de la órbita para registrar la actividad eléctrica cerebral de la convexidad y los movimientos oculares, respectivamente. Se utilizaron electrodos intramusculares en la nuca para registrar el electromiograma de dichos músculos. En un grupo de animales se implantaron electrodos de lesión en varias regiones del cerebro anterior y posterior. En algunos gatos con cánulas espinales para estimulación química se implantó, además, otra cánula encima de la primera para inyección local espinal de procaína. Los efectos producidos por el bloqueo anestésico local de la médula espinal se estudiaron comparando los efectos de la estimulación química en experimentos realizados antes y después del procedimiento de bloqueo.

Todos los experimentos se realizaron en el animal libre colocado en una jaula blindada a prueba de ruidos en donde se le podía observar fácilmente a través de una ventana unidireccional. La conducta del animal fue observada continuamente por los experimentadores y se fotografió a distintos intervalos. Los registros se hicieron con un electroencefalógrafo Kaiser. Después de un período estable de control se introdujeron pequeños cristales de diversas sustancias a través de las cánulas. Los agentes químicos utilizados en diferentes experimentos fueron: acetilcolina sola o con eserina, eserina sola, carbamilcolina, sulfato de atropina, bitartrato de nor-adrenalina, clorhidrato de adrenalina, nialamida, sulfato de estricnina, y ácido gamma-amino-butírico. La conducta del animal y sus manifestaciones electrofisiológicas se registraron durante 2 a 5 horas que siguieron a la estimulación química.

Después de terminar la exploración de varios puntos en cada gato durante varias sesiones experimentales, se perfundió el cerebro *in situ* con solución de formalina al 10% bajo anestesia con pentobarbital. Se practicaron secciones congeladas o en parafina de 30-50 μ v. de grueso las cuales se tiñeron con el método de Klüver-Barrera, o con los métodos de Nissl o de Weil para la verificación histológica de los sitios de estimulación y de registro.

RESULTADOS

Sueño acetilcolínico límbico-mesencefálico. La aplicación local de acetilcolina sola, acetilcolina con eserina, o carbamilcolina, produjo sucesivamente las manifestaciones típicas conductuales y electroencefalográficas de las etapas de sueño sincronizado y desincronizado cuando dichas sustancias se aplicaron a lo largo de una vía extraordinariamente circunscrita que se extiende desde la región preóptica hasta la calota medial ponto-mesencefálica (Fig. 1). La eserina sola produjo únicamente la fase sincronizada de sueño. Las estructuras hipnogénicas así precisadas incluyeron el fascículo medio del cerebro anterior que se extiende desde la parte superior de la región preóptica pasando por el hipotálamo lateral

y posteromedial, la parte ventromedial de la calota mesencefálica, el núcleo interpeduncular y la región medial adyacente que incluye los núcleos de Bechterew y de Gudden. La latencia del sueño acetilcolínico inducido a lo largo del circuito límbico-mesencefálico fue más corta para las partes más caudales de este circuito que para los segmentos más rostrales. En algunos experimentos el gato quedó dormido 20 segundos después de la aplicación de acetilcolina con eserina

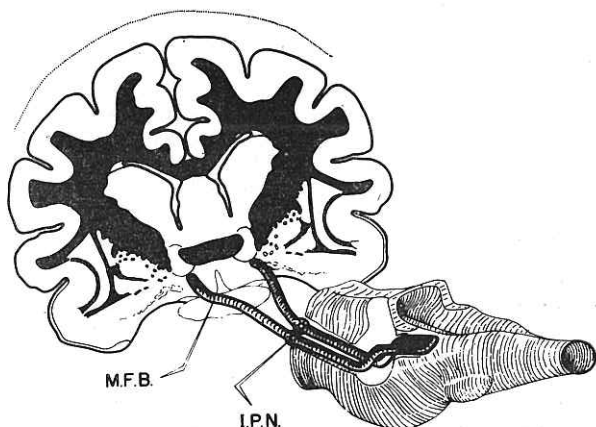


Fig. 1. Esquema tridimensional que muestra la vía hipnogénica límbico-mesencefálica extendiéndose desde la región preóptica hasta la porción medial de la calota ponto-mesencefálica. Dicha vía incluye el fascículo medio del cerebro anterior (MF.B.), la parte ventromedial del mesencefalo incluyendo el núcleo interpeduncular (I.P.N.) y la región de los núcleos de Bechterew y Gudden.

o carbamilcolina en la calota medial ponto-mesencefálica, en tanto que a menudo pasaron 2-4 minutos antes de que el animal se durmiera cuando se estimularon áreas del cerebro anterior. Como se ilustra en la Fig. 2, el sueño experimentalmente inducido fue valorado no solamente por la conducta típica precedida por una actitud preparatoria estereotipada, sino también por la aparición de husos y ondas lentas de gran voltaje en el electroencefalograma y por una disminución significativa del electromiograma de los músculos de la nuca. La aparición de la etapa profunda del sueño se caracterizó por un electroencefalograma desincronizado, aplanamiento del electromiograma de la nuca, sacudidas de los globos oculares y contracciones mioclónicas de diversos músculos.

El sueño inducido químicamente duró entre 30 minutos y 3 horas. Fue largo

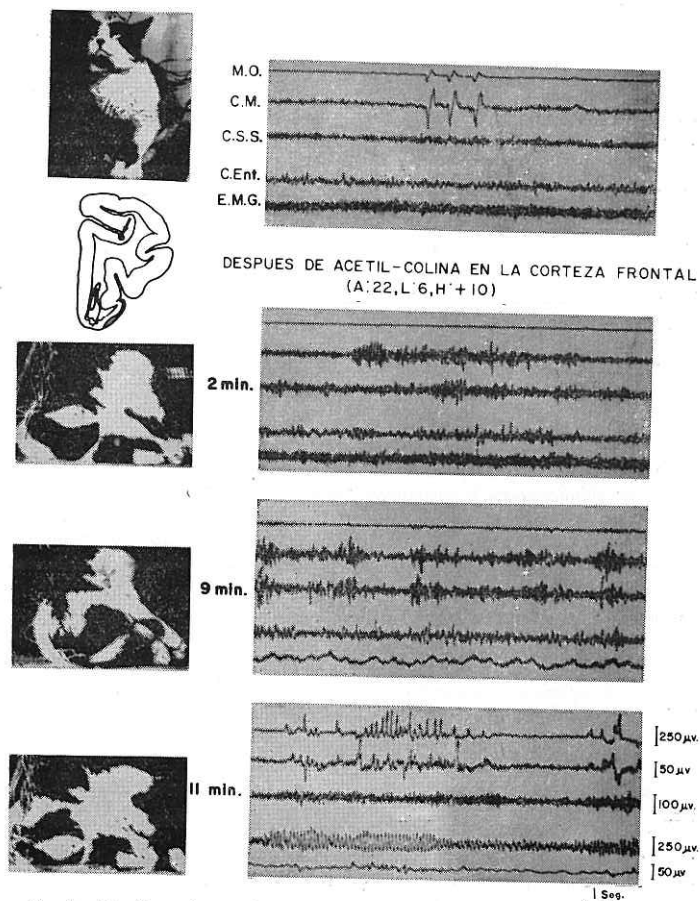


FIG. 2. Esta figura ilustra el estado de sueño casi inmediato producido por la aplicación local de acetilcolina en el punto de la corteza frontal marcado por la flecha. Simultáneamente con la observación conductual se registraron los movimientos oculares (E.M.), la actividad de la corteza motora (M.C.), de la corteza supra-silviana (S.S.C.), de la corteza entorrinal (Ent.C.) y el electromiograma de los músculos de la nuca (E.M.G.). Once minutos después de la estimulación química el gato presentó el patrón electrofisiológico de sueño profundo caracterizado por descargas de movimientos oculares rápidos, actividad neocortical desincronizada, ritmo theta en la corteza entorrinal, y un electromiograma prácticamente isoelectrico.

cuando se aplicó acetilcolina, carbamilcolina o acetilcolina más eserina; y más corto cuando se usó eserina sola. Una diferencia similar se observó en la profundidad del sueño producido por las diferentes sustancias colinomiméticas. En tanto que la eserina sola produjo generalmente sueño superficial, la carbamilcolina o la acetilcolina más eserina indujeron un sueño profundo de corta latencia. En algunos casos de sueño narcoleptoide, el gato no podía ser despertado por estímulos nociceptivos sino solamente por estimulación eléctrica de la formación reticular mesencefálica con altas intensidades.

Bloqueo atropínico de la vía hipnogénica. La acetilcolina, localmente aplicada a lo largo de la vía hipnogénica, reprodujo los efectos inducidos por estimulación eléctrica de estas regiones. Sin embargo, esta demostración no es suficiente para postular una transmisión sináptica colinérgica en dicha vía. Se necesitan otros criterios para considerar dicha idea como altamente probable. Un criterio es que las sustancias colinestearásicas que evitan la destrucción enzimática de la acetilcolina producida en forma natural deben reproducir los efectos producidos por la estimulación eléctrica o acetilcolínica de las neuronas correspondientes. De hecho, los resultados experimentales descritos anteriormente demostraron que la eserina sola aplicada en la región preóptica hipnogénica produjo sueño. Otro criterio es que los agentes farmacológicos que evitan la acción del transmisor químico sobre la membrana subsináptica deben producir un bloqueo sináptico de la vía nerviosa correspondiente. Con este objeto se introdujeron pequeños cristales de atropina en varios puntos de la vía hipnogénica límbico-mesencefálica. Se encontró que después de la aplicación local de atropina, ya sea en la región preóptica o en los núcleos de Bechterew o de Gudden se produjo un estado de alerta acompañado de la típica desincronización electroencefalográfica persistente y de las "descargas del despertar" de alto voltaje en el bulbo olfatorio descritas por Hernández-Peón y cols. (1960). Aún más, cuando la atropina se aplicó localmente en segmentos caudales del circuito hipnogénico límbico-mesencefálico, tales como el núcleo interpeduncular o el núcleo de Bechterew, la estimulación acetilcolínica de puntos hipnogénicos previamente comprobados en la región preóptica no produjo sueño. Este hallazgo sugiere fuertemente que la atropina bloquea la acción de la acetilcolina normalmente liberada en las terminales presinápticas de neuronas hipnogénicas a lo largo de la vía arriba mencionada. Otra conclusión que puede obtenerse de estos experimentos es que la actividad a lo largo de este sistema neuronal se transmite del cerebro anterior hacia atrás al mesencéfalo y a la protuberancia.

Interrupción electrolítica de la vía hipnogénica límbico-mesencefálica. La conclusión arriba mencionada ha sido confirmada por experimentos en los cuales se realizaron lesiones electrolíticas bilateralmente en segmentos caudales del fascículo medio del cerebro anterior. Estas lesiones evitaron el sueño que se pro-

duce por estimulación acetilcolínica del fascículo medio del cerebro anterior a nivel de la región preóptica o del hipotálamo anterior. Otro experimento que elimina la posibilidad de una dirección ascendente de los impulsos hipnogénicos a lo largo del circuito límbico-mesencefálico, consistió en probar el efecto producido por estimulación acetilcolínica de porciones caudales del fascículo medio del cerebro anterior después de que se hicieron lesiones en segmentos rostrales. En efecto, la estimulación química de dichos puntos caudales produjo sueño comparable al obtenido antes de hacer la lesión rostral.

Sueño acetilcolínico fronto-temporal. Puesto que la región preóptica representa un sitio anatómico de convergencia para fibras procedentes de los lóbulos frontal y temporal y puesto que en estudios experimentales previos se había observado sueño por estimulación de regiones basales del lóbulo temporal (Russek y Hernández-Peón, 1961) se decidió estudiar con el método de quimio-estimulación la posible existencia de proyecciones frontales y temporales a la vía hipnogénica límbico-mesencefálica. Alrededor de 450 puntos del lóbulo temporal y 84 del lóbulo frontal han sido explorados en 59 gatos. Las regiones cuya estimulación acetilcolínica ha producido sueño o somnolencia con las siguientes: la corteza frontal, las circunvoluciones perisilvianas, la corteza piriforme y prepiriforme, la banda diagonal de Broca, y el núcleo entopeduncular. Algunas de ellas se ilustran en la Fig. 3. La localización anatómica extraordinariamente discreta de las regiones hipnogénicas y temporales se ejemplifica en el siguiente experimento: cuando la acetilcolina fue aplicada en el complejo amigdalóideo se produjeron convulsiones y efectos vegetativos intensos; sin embargo, cuando la acetilcolina fue aplicada al día siguiente al mismo animal en un punto situado un milímetro más abajo en la región de la corteza piriforme, se observaron las manifestaciones típicas de sueño.

Con el fin de precisar la vía subcortical utilizada por las áreas hipnogénicas de la corteza piriforme, en 15 gatos se implantaron electrodos de lesión en la región preóptica, en el fascículo medio del cerebro anterior, en el núcleo ventral del tálamo, en el núcleo reticularis gigantocellularis, en el núcleo reticularis pontis oralis, en el núcleo reticularis pontis caudalis, en el núcleo tegmenti ponti profundus, en el núcleo de Gudden, y en la substancia gris periacueductal. Además, se implantaron una a dos cánulas en la corteza piriforme. Después de determinar un punto hipnogénico, se hizo la lesión electrolítica bajo anestesia barbitúrica, y cuando se recuperó el animal la acetilcolina fue aplicada en el mismo punto de la corteza piriforme. Se encontró que las lesiones electrolíticas que abarcan el fascículo medio del cerebro anterior, el núcleo ventral anterior del tálamo o el núcleo reticularis gigantocellularis en la porción rostral de la calota bulbar, evitaban el sueño producido por estimulación acetilcolínica de la corteza piriforme (Fig. 4). En cambio, las lesiones mesencefálicas en el núcleo de Gudden y en la

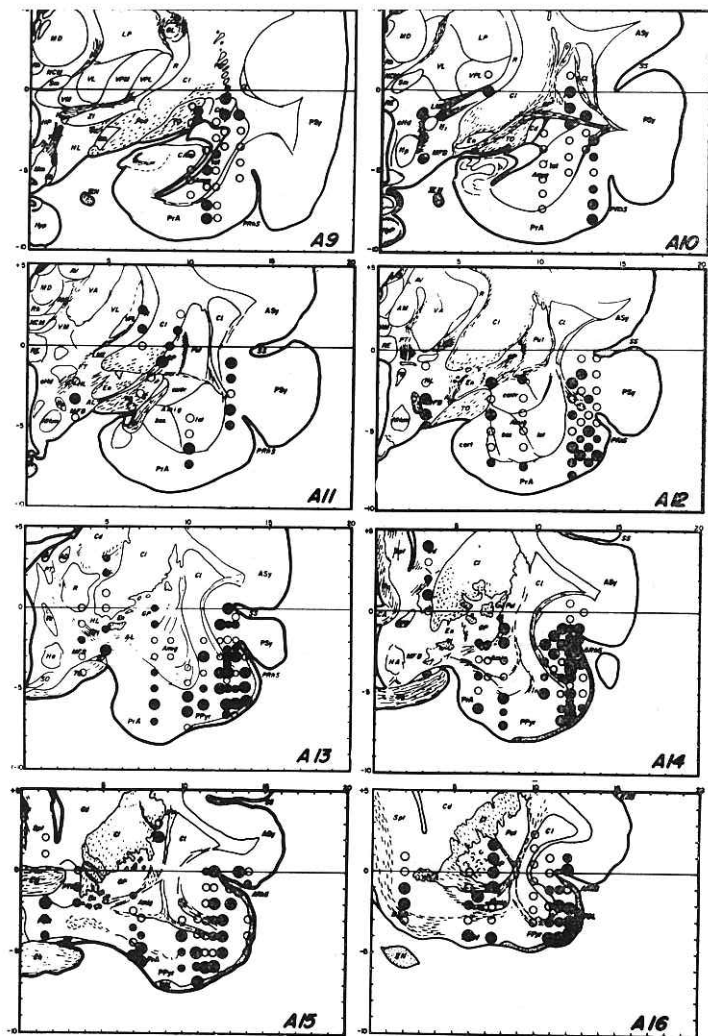


FIG. 3. Cortes transversales del lóbulo temporal del gato en los que se muestran con círculos llenos los puntos en donde la aplicación local de acetilcolina produjo sueño. Los círculos vacíos produjeron otros efectos.

I

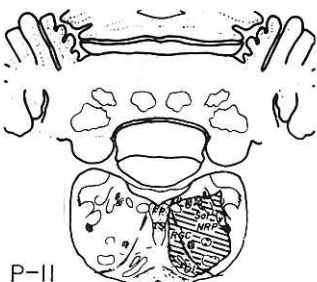
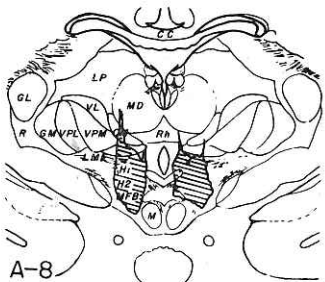
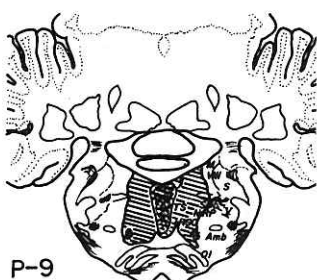
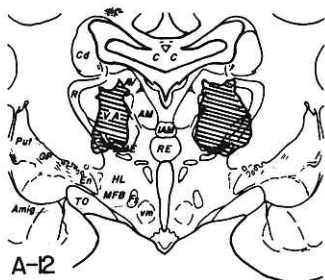
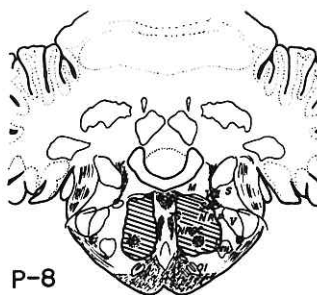
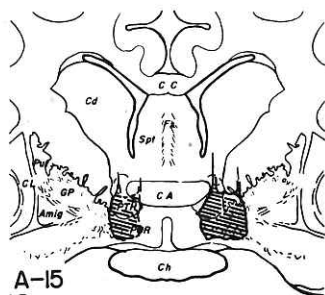


FIG. 4. Cortes transversales del cerebro anterior, del diencefalo y de la porción caudal del tallo cerebral que muestran en las áreas rayadas las estructuras cuya lesión electrolítica evitó el sueño de origen cortical en el área piriforme.

substancia gris periacueductal, así como las lesiones de los núcleos reticularis pontis oralis y caudalis no modificaron el sueño de origen cortical (fig. 5).

II

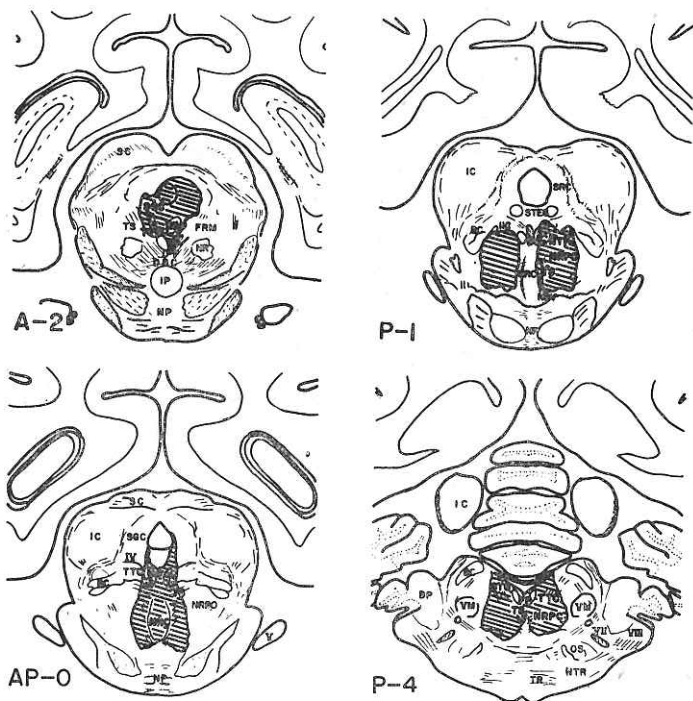


FIG. 5. Cortes transversales del mesencéfalo, protuberancia y bulbo raquídeo que muestran en las áreas rayadas las estructuras cuya lesión electrolítica no modificó el sueño de origen cortical.

Con el objeto de comprobar aún más las conexiones de la corteza piriforme con el circuito hipnogénico límbico-mesencefálico se realizaron algunos experi-

mentos con el método de neuronografía. En efecto, inmediatamente después de la estricnización local de la corteza piriforme se registraron las típicas ondas agudas en el fascículo medio del cerebro anterior. Estos resultados permiten establecer la existencia de una vía paucisináptica entre las estructuras estudiadas.

Sueño acetilcolínico cingular. Puesto que el gyrus cinguli representa parte de la corteza límbica que rodea el hilio del hemisferio, y puesto que su parte

PUNTOS HIPNOGENICOS COLINOCEPTIVOS CORTICO-MESIALES

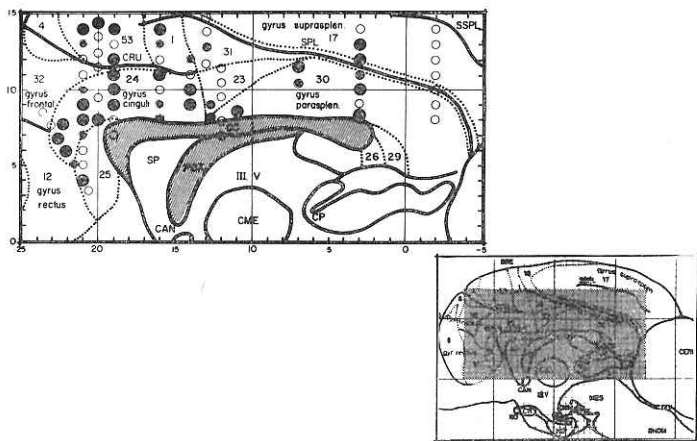


FIG. 6. Diagrama que muestra con los círculos llenos los puntos de la superficie mesial del hemisferio en donde la aplicación local de acetilcolina produjo sueño. Los círculos vacíos corresponden a puntos en donde se obtuvieron otros efectos.

anterior envía conexiones a las regiones septal y preóptica, se decidió explorar esta región cortical con estimulación acetilcolínica. La exploración de 75 puntos realizados en 9 gatos, ha revelado un área hipnogénica en la parte anterior del gyrus cinguli. La localización rostral de esta área se manifiesta claramente por la ausencia de sueño al estimular la parte posterior de la misma circunvolución (Figura 6).

Sueño acetilcolínico talámico. El trabajo pionero de Hess, (1931) quien demostró que la estimulación eléctrica de una región talámica medial en la vecindad de la masa intermedia produce sueño, ha sido confirmado reciente-

mente por numerosos investigadores (Monnier, *et al.*, 1963; Tissot y Monnier, 1959; Russek y Hernández-Peón, 1961). También ha quedado establecido que el conjunto de neuronas talámicas hipnogénicas ocupa la misma región anatómica donde existen elementos que pueden excitar a las neuronas mesencefálicas despertadoras a través de la región de la comisura posterior (Schlag y Chaillet, 1963). Por lo tanto, nos pareció razonable que el método de estimulación química

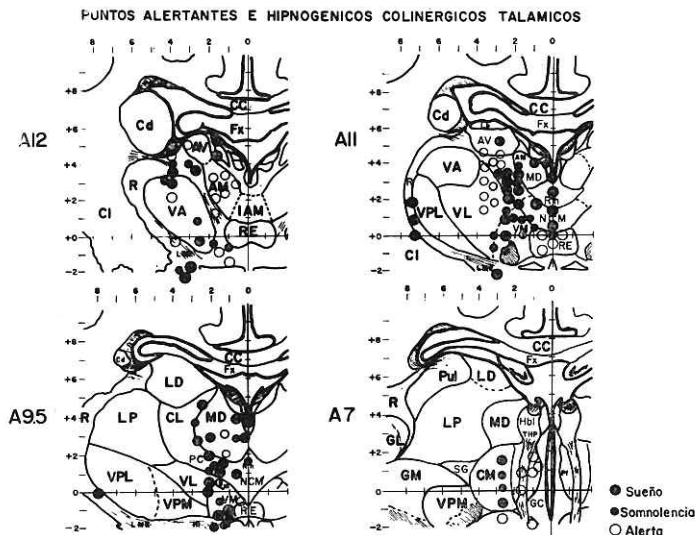


FIG. 7. Cortes transversales del tálamo que muestran con los círculos llenos los puntos en donde la aplicación local de acetilcolina produjo sueño o somnolencia. De los puntos marcados con los círculos vacíos la misma estimulación química produjo un efecto alertante.

localizada podía permitir una disección funcional de los elementos hipnogénicos y despertadores a este nivel. Con este propósito se implantaron cánulas en diversos núcleos talámicos en 15 gatos. La exploración de 133 puntos en esta zona ha revelado un área hipnogénica definida que incluye los siguientes núcleos: n. romboidalis, n. centralis medialis, el límite de n. centralis medialis y n. reuniens, n. centralis lateralis, y n. reticularis (Fig. 7). El sueño producido por estimulación

acetilcolínica del tálamo medial es notable por su latencia corta y su larga duración.

Sueño acetilcolínico estriado. Durante la exploración de las regiones temporales del cerebro anterior se encontraron puntos hipnogénicos en la cabeza y

PUNTOS HIPNOGENICOS ESPINALES

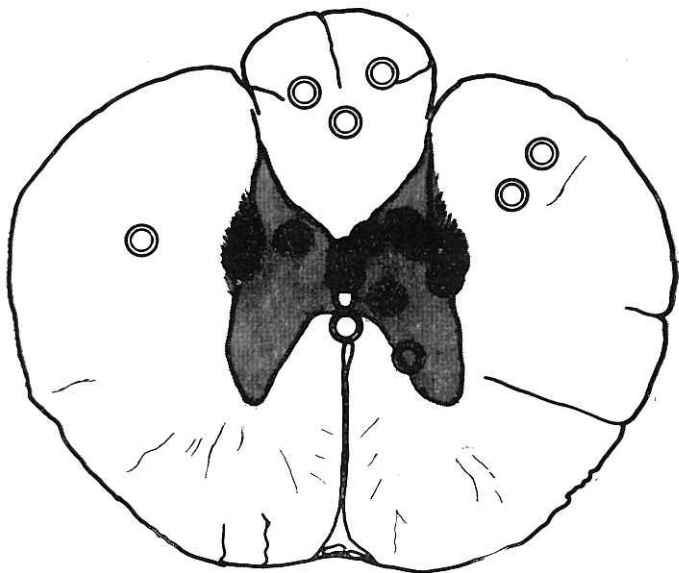


FIG. 8. Corte transversal de la médula del gato que muestra con los círculos llenos las áreas de la sustancia gris espinal y de la formación reticular espinal en donde la aplicación local de acetilcolina produjo sueño. De los puntos marcados con círculos vacíos no se observó ningún efecto conductual significativo.

cola del núcleo caudado, en el globus pallidus, en el límite del putamen y del globus pallidus, en el límite del claustrum superior y la corteza piriforme, en el límite del pallidum y el núcleo interpeduncular, y en el límite entre el pallidum y la amígdala. Todas estas regiones pueden representar parte de las vías descendentes hipnogénicas corticofugas.

Sueño acetilcolínico ponto-bulbar. En una exploración sistemática inicial de la porción caudal del tallo cerebral con el objeto de explorar las estructuras hipnogénicas colinoceptivas a este nivel, se ha obtenido sueño de una zona medial en el tegmento ponto-bulbar donde se encuentran localizados el núcleo reticularis gigantocellularis y el núcleo reticularis pontis caudalis.

SISTEMA DEL SUEÑO

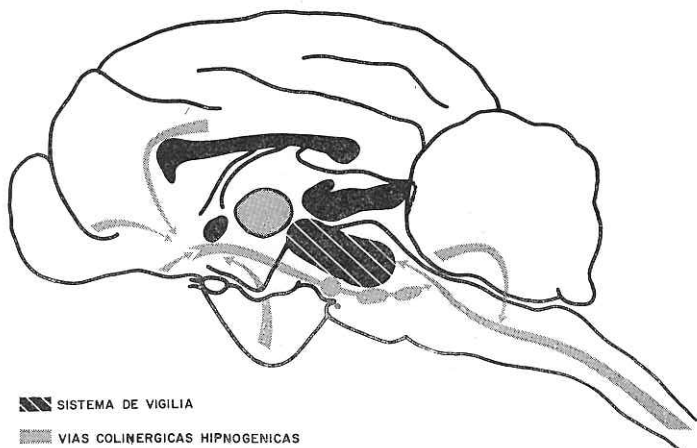


FIG. 9. Representación esquemática del Sistema de Sueño constituido por dos componentes: una vía ascendente espino-bulbo-pontina que recibe proyecciones cerebelosas, y una vía descendente córtico-límbico-mesencéfalo-bulbar que recibe proyecciones corticofugas.

Sueño acetilcolínico espinal. Basado en consideraciones filogenéticas, Hernández-Peón (1965) ha propuesto la hipótesis de que los sistemas de vigilia y de sueño estuvieron representados tempranamente en el tubo neural primitivo, desarrollándose más tarde en paralelo con el sistema nervioso central.

Con el fin de explorar la posible existencia de partes reminiscentes del sistema del sueño en la médula espinal, se implantaron las cánulas previamente descritas en 33 gatos a distintos niveles de la médula espinal. Los resultados experimentales demostraron que, en efecto, la estimulación acetilcolínica de la sustancia gris espinal produjo las dos etapas del sueño. Esta área comprende la sustancia gris comisural, la base de las astas posteriores y la formación reticular espinal.

localizada entre las astas anteriores y posteriores (Fig. 8). Al igual que en otras regiones exploradas del sistema nervioso central, el método usado ha demostrado una discreta localización anatómica del área hipnogénica espinal ya que muy a menudo se encontraron en el mismo animal en los cordones posteriores y en las astas anteriores puntos negativos situados a un milímetro de distancia de los puntos hipnogénicos.

La existencia de neuronas espinales hipnogénicas lógicamente implica que su acción inhibitoria sobre el Sistema de Vigilia localizado en la porción rostral del tallo cerebral debe ejercerse a través de proyecciones ascendentes. Con el objeto de someter a prueba experimental esta conclusión inevitable, en varios gatos se implantaron dos cánulas en regiones adyacentes de la médula espinal. Al día siguiente de comprobar un punto espinal hipnogénico a través de la cánula inferior, se realizó un bloqueo espinal mediante la inyección de una solución de procaina a través de la cánula superior. Veinte minutos después la acetilcolina aplicada en la cánula inferior ya no produjo sueño. Es evidente que existen influencias hipnogénicas ascendentes que se originan a nivel de la médula espinal.

Esta influencia inhibitoria espinal ascendente puede tener relación con el fenómeno de Schiff-Sherrington. Si hay influencias espinófugas que inhiben a las neuronas reticulares facilitadoras mesencefálicas responsables de la rigidez de decerebración, debe ser posible producir la inhibición del tono muscular en una preparación decerebrada por estimulación acetilcolínica espinal localizada. Este efecto ha sido demostrado en experimentos en los cuales la decerebración fue obtenida mediante una extensa lesión electrolítica mesencefálica. La actividad tónica de los músculos extensores del cuello y de los miembros anteriores se redujo notablemente después de la aplicación local de acetilcolina en la sustancia gris de la médula espinal, en tanto que no se produjo ningún efecto al aplicar la acetilcolina en una región espinal superficial situada a un milímetro de distancia.

DISCUSIÓN

El problema de la naturaleza química de la transmisión sináptica central es difícil de abordar experimentalmente debido a que se necesita reunir un grupo de datos experimentales congruentes antes de que se pueda establecer que un agente químico determinado pueda ser un transmisor sináptico central. La prueba más directa sobre la función transmisora de una sustancia química es que dicha sustancia sea extraída del tejido extracelular que rodea la región sináptica activada. En el sistema nervioso central, dicha determinación se enfrenta a dificultades técnicas inherentes a su compleja organización neuronal. Por lo tanto, deben buscarse pruebas indirectas en favor o en contra de la posibilidad de que

una substancia determinada puede ser un transmisor sináptico. En este trabajo se presentan datos que apoyan la opinión de que la acetilcolina es un mediador sináptico excitatorio en la vía hipnagénica encontrada.

Acción sináptica excitatoria colinérgica en una vía hipnagénica. Existen indicios en la literatura de que la acetilcolina puede estar estrechamente relacionada con la inducción de sueño. Hoffer (1954) encontró en humanos que la inyección parenteral de acetilcolina producía somnolencia con una iniciación más temprana del sueño nocturno habitual. Dikshit (1934, 1935) parece haber sido el primero que indujo sueño en gatos mediante inyecciones intraventriculares o intrahipotalámicas de acetilcolina. Sin embargo, este autor describió un efecto de larga latencia (10-30 minutos) "muy semejante al sueño". Este estado difiere del estado de corta latencia obtenido en nuestros experimentos, el cual es indistinguible conductual y electroencefalográficamente del sueño fisiológico espontáneo.

Nuestros resultados obtenidos por estimulación química localizada del sistema nervioso central han demostrado claramente que el sueño puede ser inducido por estimulación acetilcolínica de una vía anatómica muy circunscrita que se extiende a lo largo de todos los niveles del neuroeje. El hecho de que la acetilcolina extrínsecamente introducida al sistema nervioso produzca sueño no demuestra que dicha substancia sea liberada durante la activación fisiológica de esa vía. Sin embargo, el efecto hipnagénico producido por la eserina que evita la destrucción enzimática de la acetilcolina, y el bloqueo del sueño experimental producido por atropinización local de la vía hipnagénica, apoyan la opinión de una transmisión sináptica excitatoria mediada por acetilcolina liberada en terminaciones presinápticas de dicha vía. En 1955, basado en la literatura de aquel tiempo, Feldberg propuso una alternancia de sinapsis colinérgicas y no colinérgicas a lo largo de diversas vías centrales. Sin embargo, no se ha demostrado de manera concluyente que este principio hipotético tenga una aplicación general en todo el sistema nervioso central. Pero aún suponiendo que las sinapsis colinérgicas alternan con sinapsis que utilizan otros mediadores químicos, cabe la posibilidad de que ambas clases de sinapsis puedan estar imbricadas a lo largo de una cadena multisináptica de neuronas de axón corto. Ambos tipos de organización sináptica pueden explicar el hallazgo de que la acetilcolina produce sueño en cualquier segmento de la vía hipnagénica.

Acción sináptica inhibitoria entre el Sistema del Sueño y el Sistema de Vigilia. Aunque todas las pruebas experimentales mencionadas anteriormente sugieren fuertemente que el transmisor sináptico excitatorio a lo largo del Sistema del Sueño es la acetilcolina, queda por resolver cuál es el transmisor inhibitorio que actúa sobre las membranas subsinápticas de las neuronas de vigilia. Ciertas características del sueño fisiológico y las observaciones experimentales sugieren que la iniciación del sueño está asociada con un fenómeno acumulativo, y que

la terminación del sueño es también progresiva. Estas observaciones comunes podrían explicarse suponiendo que la activación del Sistema del Sueño libera una sustancia hipnógena que se acumula debido a un proceso lento de destrucción enzimática. Esta sustancia sería el transmisor hipnógeno inhibitorio de naturaleza química desconocida, el cual podría pasar en pequeñas cantidades a la circulación general. Los experimentos recientes de circulación cruzada y diálisis realizados por Monnier y sus cols. (1963, *b*; 1965) estarían de acuerdo con esta opinión. En efecto, dichos autores han encontrado que la estimulación eléctrica del área talámica hipnógena libera una sustancia en la circulación general del animal donador, que a su vez puede producir la sincronización electroencefalográfica en el animal receptor. Este hallazgo indica que la sustancia hipnógena no es destruida ni por el cerebro ni por las enzimas sanguíneas, y que, por lo tanto, debe ser diferente de la acetilcolina.

Una teoría unitaria y evolucionaria del Sistema del Sueño. Cuando se aplicaron microcristales de acetilcolina en cualquier punto de la vía hipnógena, ya sea en la médula espinal o en el cerebro anterior, la fase sincronizada de sueño siempre precedió a la fase desincronizada con movimientos oculares rápidos. Puesto que la misma serie de efectos neuronales fueron obtenidos de regiones centrales tan remotas, es lógico concluir que los mecanismos nerviosos responsables de las manifestaciones fisiológicas de las dos fases principales del sueño deben ser activados por una región final común de convergencia.

La localización más plausible de este enlace es la porción rostral del tegmento bulbar y la porción caudal del tegmento protuberancial, desde donde las neuronas hipnógenas finales enviarían sus conexiones ascendentes inhibitorias a las neuronas de vigilia localizadas en la porción rostral de la protuberancia, en el mesencéfalo, y en el hipotálamo posterior. Nuestros datos experimentales de lesiones electrolíticas apoyan esta conclusión. En efecto, la destrucción localizada del núcleo reticularis gigantocellularis en el bulbo raquídeo interfirió el sueño de origen cortical temporal. Los estudios anatómicos de Brodal y Rossi (1955) han demostrado que las neuronas reticulares de dicho núcleo bulbar y las situadas en el n. reticularis proutis caudalis un poco más arriba, envían largos axones ascendentes hacia la región mesencefálica. Por lo tanto, es plausible que estos dos grupos de neuronas reticulares bulbo-pontinas puedan representar el eslabón final entre el Sistema del Sueño y el Sistema de Vigilia.

La organización anatómica de un Sistema de Sueño homogéneo y anatómicamente circunscrito, que comprende un componente ascendente espino-bulbo-pontino y un componente descendente córtico-límbico-mesencéfalo-bulbar (Fig. 9) explica por qué una sección en la parte medial de la protuberancia, que interrumpe el extremo final de ambos componentes, da como resultado un cerebro persistentemente despierto. La aparición progresiva de períodos cada vez más

largos de sincronización electroencefalográfica en la preparación crónica medio-pontina, sugiere la existencia adicional de conexiones inhibitorias colaterales más altas, que desprendiéndose del segmento hipnogénico descendente a niveles mesodiencefálicos podrían actuar sobre las neuronas de vigilia sensibilizadas por la denervación crónica.

De acuerdo con esta interpretación, el proceso continuo de sueño, desde la fase con electroencefalograma lento hasta la fase con electroencefalograma rápido, sería consecuencia de diferentes grados de actividad en un sistema hipnogénico único independientemente del segmento inicialmente más activado. Es probable que los estímulos sensoriales somáticos activen primariamente la vía hipnogénica ascendente espinoso-bulbo-pontina, que la somnolencia post-prandial o post-coital pueda originarse de estructuras hipnogénicas límbico-diencefálicas y que el sueño condicionado, asociado con hábitos, puede ser iniciado por actividad de áreas corticales hipnogénicas. Una inhibición incrementándose progresivamente y que asciende desde el límite rostopontino hasta el límite talámico del Sistema de Vigilia, explicaría las manifestaciones electroencefalográficas de las dos etapas del sueño sin necesidad de postular dos mecanismos nerviosos diferentes y anatómicamente independientes, como han propuesto otros autores (Jouvet, 1963.) Los "husos" y ondas lentas corticales de la etapa superficial de sueño resultarían de una desinhibición cortical y de los núcleos de reclutamiento talámico cuando las neuronas mesencefálicas de vigilia son inhibidas por las neuronas hipnogénicas. Al invadir la inhibición los núcleos talámicos mediales de reclutamiento, desaparecen los husos presentando así la neocorteza solamente una actividad rápida de pequeño voltaje. Al mismo tiempo que la inhibición hipnogénica asciende progresivamente, se produce un reclutamiento de neuronas inhibitorias ponto-bulbares el cual es más rápido al final de la etapa sincronizada de sueño. Esto explicaría la disminución casi brusca de excitabilidad de neuronas motoras espinales, cardiopresoras y respiratorias observadas al principio de los episodios de sueño profundo. Disminuciones y aumentos de corta duración en la actividad de diferentes grupos de neuronas inhibitorias del tallo cerebral, explicarían los cambios fisiológicos básicos que acompañan a las descargas de movimientos oculares rápidos. Este modelo fisiológico monístico del sueño ha sido suplementado por consideraciones filogenéticas evolucionarias (Hernández-Peón, 1965). De acuerdo con esta teoría, tanto el Sistema de Vigilia como el Sistema de Sueño estuvieron tempranamente representados en el tubo neural primitivo, Durante la encefalización su parte principal quedó localizada a nivel del tallo cerebral, la cual recibió más tarde proyecciones límbicofugas y neocortícofugas, paralelamente con la aparición y desarrollo del paleopallium y neopallium, respectivamente.

REFERENCIAS

1. Akert, K.; Koella, W. P.; Hess, R. Jr.: *Sleep produced by electrical stimulation of the thalamus*. Amer. J. Physiol. 168: 260-267, 1952.
2. Akimoto, T.; Yamaguchi, N.; Okabe, K.; Makagawa, T.; Nakamura, I.; Abe, K.; Torii, H.; Nasahashi, K.: *On the sleep induced through electrical stimulation on dog thalamus*. Folia Psychiat. Neurol. Jap. 10: 117-146, 1956.
3. Batini, C.; Moruzzi, G.; Palestini, M.; Rossi, G. F.; Zanchetti, A.: *Persistent patterns of wakefulness in the pretectal midpontine preparation*. Science. 128: 30-32, 1958.
4. Brodal, A.; Rossi, G. F.: *Ascending fibers in brain stem reticular formation of cat*. Arch. Neurol. Psychiat. 74: 68-87, 1955.
5. Dikshit, B. B.: *Action of acetylcholine on the "sleep center"*. J. Physiol. (London) 83: 42, 1934.
6. Dikshit, B. B.: *The physiology of sleep*. Lancet. 228 (I): 570, 1935.
7. Economo, C. von: *Die encephalitis lethargica*. Viena, Deuticke, 1918.
8. Favale, E.; Loeb, C.; Rossi, G. F.; Sacco, G.: *EEG synchronization and behavioral signs of sleep following low frequency stimulation of the stem reticular formation*. Arch. Ital Biol. 99: 1-22, 1961.
9. Feldberg, W.: *The role of acetylcholine in the central nervous system*. Brit. Med. Bull. 6: 312-321, 1955.
10. Hernández-Peón, R.; Lavín, A.; Alcocer-Cuarón, C.; Marcelin, J. P.: *Electrical activity of the olfactory bulb during wakefulness and sleep*. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 12: 41-58, 1960.
11. Hernández-Peón, R.: *Sleep induced by localized electrical or chemical stimulation of the forebrain*. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 14: 423-424, 1962.
12. Hernández-Peón, R.; Chávez-Ibarra, G.; Morgane, P. J.; Timio-Iaria, C.: *Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotional behavior*. Exper. Neurol. 8: 93-111, 1963.
13. Hernández-Peón, R.: *A cholinergic hypnogenic limbic forebrain-hindbrain circuit*. En Jouver, M. (Ed.), Neurophysiologie des états de sommeil. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique Paris, 1965, p. 63-88.
14. Hernández-Peón, R.: *Central neuro-humoral transmission in sleep and wakefulness*. En Akert, K. and J. P. Schade (Eds.), Progress in Brain Research: Sleep Mechanisms. Vol. 18. Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1965, p. 96-117.
15. Hess, W. R.: *Le sommeil*. C. R. Soc. Biol. Paris 107: 1333-1360, 1931.
16. Hoffer, A.: *Induction of sleep by autonomic drugs*. J. nerv. ment. Dis. 119: 421-477, 1954.
17. Juvet, M.: *A study of neurophysiological mechanisms of dreaming*. En R. Hernández-Peón (Ed.), *The Physiological Basis of Mental Activity*. Electroenceph. clin. Neurophysiol. supp. 24: 133-156, 1963.
18. Monnier, M.; Hosli, L.; Krupp, P.: *Moderating and activating systems in medial thalamus and reticular formation*. In R. Hernández-Peón (Ed.), *The Physiological Basis of Mental Activity*. Electroenceph. clin. Neurophysiol. supp. 24: 97-112, 1963.
19. Monnier, M.; Koller, T.; Graber, S.: *Humoral influences of induced sleep and arousal upon electrical sleep and arousal upon electrical brain activity of animals with crossed circulation*. Exper. Neurol. 8: 264-277, 1963.
20. Monnier, M.; Koller, T.; Hosli, L.: *Humoral mechanisms in experimental sleep*. En Juvet, M. (Ed.), *Neurophysiologie des états de sommeil*. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1965, p. 37-50.
21. Nauta, W. J. H.: *Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study*. J. Neurophysiol. 1: 285-316, 1946.
22. Pompeiano, O.; Swett, J. E.: *EEG and behavioral manifestations of sleep by cutaneous nerve stimulation in normal cats*. Arch. ital. Biol. 100: 311-342, 1962.

23. Russek, M.; Hernández-Peón, R.: *Olfactory bulb activity during sleep induced by stimulation of the limbic structures*. Acta Neurol. Latinoamer. 7: 299-302, 1961.
24. Schlag, J. P.; Chaillet, F.: *Thalamic mechanisms involved in cortical desynchronization and recruiting responses*. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 15: 39-62, 1963.
25. Sterman, M. B.; Sterman, C. D.: *Forebrain inhibitory mechanisms: cortical synchronization induced by basal forebrain stimulation in the behaving cat*. Exper. Neurol. 6: 103-117, 1962.
26. Tissot, R.; Monnier, M.: *Dualité du système thalamique de projection diffuse*. Electroenceph. clin. Neuropsychiol. 11: 675-686, 1959.

COMENTARIO AL TRABAJO: "UNA VÍA NEURONAL
COLINÉRGICA HIPNOGÉNICA EN EL SISTEMA
NERVIOSO CENTRAL"*

DR. FRANCISCO ALONSO DE FLORIDA**

EL DOCTOR Raúl Hernández-Peón, quien se ha distinguido por sus estudios de la fisiología de la conciencia, presenta un trabajo a su ingreso a la Academia sobre sus últimas investigaciones del problema del sueño. Aunque fundándose en datos propios busca unificar diversos puntos de vista que varios autores modernos han avanzado al respecto. No entraré a discutir su hipótesis, sino que más bien me aplicaré a un par de puntos referentes al método experimental, porque me parece que este último debería afinarse antes de sustentar las conclusiones.

El autor afirma la existencia de una vía colinérgica desde el mismo título de su trabajo, basándose principalmente en el supuesto de que los cristales de acetilcolina que deposita en el cerebro son el estímulo que pone en marcha únicamente a las sinapsis colinérgicas. Véase, ante todo, que el procedimiento es muy crudo, pues las altísimas concentraciones que se obtienen seguramente tienen efectos que pueden muy bien ser inespecíficos; por ejemplo, osmóticos. Y aun cuando resulten de la acción en sitios colinoceptivos, no puede concluirse que éstos son necesariamente subsinápticos, sino que, según se sabe,¹ en estas circunstancias se estimulan por igual las fibras y a veces se obtiene conducción antidrómica. Además, estas concentraciones extremas de acetilcolina, en lugares bien irrigados del cerebro y salvando la barrera hematoencefálica, podrían muy bien actuar por vía circulatoria en territorios lejanos del mismo sistema nervioso, con lo cual en lugar de excitar de una manera restringida, se tendrían efectos más difusos que con la estimulación eléctrica. Otros autores¹ quienes emplean técnicas muy finas de electroforesis combinadas con el registro intracelular, para percibir los sitios colinoceptivos, han encontrado buenas pruebas de la transmisión colinérgica en las terminaciones de las células de Renshaw de la médula espinal;

* Presentado en la sesión del 27 de octubre de 1965.

** Académico numerario. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México.

pero en el encéfalo han visto respuestas cuyo curso temporal de gran duración no garantiza la naturaleza colinérgica de las sinapsis, sobre todo si se toma en cuenta la mayor efectividad de ciertos aminoácidos acídicos. Por último, en relación a este punto, se echa mucho de menos en el trabajo que comento un análisis de la distribución de la colinesterasa, la cual normalmente se sitúa como parte de la sinapsis colinérgica.

Los resultados de Hernández-Peón, de todas maneras, demuestran la producción del sueño por la aplicación de acetilcolina en ciertos núcleos del sistema nervioso, según una distribución bien definida y circunscrita. Por cierto que esta vía corresponde en sus rasgos generales con el circuito "sistema límbico-mesencéfalo" de Nauta,² que aunque se le relaciona más bien con las regulaciones viscerales y endocrinas del hipotálamo, parece ahora intervenir asimismo, en los mecanismos del sueño. Pero como ya dije, se hace necesario descontar con mayor rigor la posibilidad de que ciertos artificios de técnica pasen desapercibidos como causa real de los efectos, sobre todo en vista de la importancia de las conclusiones que deduce el autor y tanto más cuanto que algunos resultados se apartan de modo ostensible de la teoría de las regulaciones cerebrales en general.³ Sorprende de manera particular, por ejemplo, que el sueño se produzca por estimulación de la médula espinal. No extraña que una función determinada se represente en todo el neuroeje, pues así sucede con las funciones motoras, la regulación de la temperatura, las funciones sexuales, etc. Pero en la médula espinal separada del encéfalo sólo se reconocen respuestas fragmentarias y elementales de esas integraciones, en tanto que Hernández-Peón encuentra que la médula desencadena el sueño cabal, de manera indistinguible del fenómeno normal. Si se tratara de influencias ascendentes como sugiere el autor, entonces no cabría hacerse consideraciones filogenéticas, pues éstas implican la afirmación de centros o asociaciones neuronales en la médula, en cierta forma autosuficientes y que recuerdan al tubo neural primitivo, aunque estos centros sean capaces de modularse o influirse por la acción de los sistemas de regulación más finos, que se superponen en el curso de la encefalización. Sería interesante saber si la médula espinal aislada del encéfalo da signos que recuerden a las alternancias de sueño y vigilia; pero este fenómeno lo niegan otros autores³ y no se sustantiva con los resultados que nos presenta Hernández-Peón.

En fin, este trabajo como en general toda la obra de Hernández-Peón, revela agudeza y a la vez genera controversias, lo cual es útil en su medida para el avance del conocimiento, puesto que las controversias se resuelven con los experimentos ulteriores. Así pues, al desearle un feliz desarrollo dentro de la Academia, espero que encuentre constructivas mis opiniones y que todos aquí, en el futuro, constatemos el éxito de su labor.

REFERENCIAS

1. Eccles, J. C.: *The physiology of synapses*. Springer-Verlag: Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1964.
2. Nauta, W. J. H.: *Central nervous organization and the endocrine motor system*. En: A. V. Nalbandov: *Advances in Neuroendocrinology*, University of Illinois Press, 1963, p. 5.
3. Bard, P.: *Medical physiology*. Mosby Co., St. Louis, 1961.