

11261
2ey
8

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA

" EVIDENCIAS ELECTROFISIOLÓGICAS
DE UNA COMUNICACION BIDIRECCIONAL ENTRE EL NUCLEO
SUPRAQUIASMÁTICO Y EL LOCUS COERULEUS"

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS EN EL
AREA DE F I S I O L O G I A .

AUTORA : M.C. MARIA OLGA LEGORATTI SANCHEZ

MEXICO, D.F.

NOVIEMBRE DE 1987 .

DEPARTAMENTO DE FISILOGIA.

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE.

CAPITULO I. INTRODUCCION.

I. Locus Coeruleus	Pág.
a) Citología	1
b) Aferencias y Eferencias	6
c) Fisiología	12
d) Significado funcional de la actividad del LC.	21
II. Núcleo supraquiasmático.	
a) Citología	23
b) Aferencias y Eferencias	25
c) Fisiología	30

CAPITULO II. PLANTEAMIENTO DEL TEMA DE ESTUDIO.

I. Posible acción moduladora del LC sobre el ciclo estral de la rata	45
II. La integridad del NSQ y su acción moduladora sobre el ciclo estral	46
III. Hipótesis de trabajo	47

CAPITULO III. METODOS.

I. Registro de potenciales provocados	49
a) Animales de experimentación	50
b) Anestesia	50
c) Procedimientos quirúrgicos	50
d) Mantenimiento de la preparación	51
e) Electrodoos	51
f) Esterotaxia	52
g) Verificación histológica de los sitios de registro y estimulación	52
h) Estimulación y registro	53

i)	Verificación histológica de los sitios de registro y estimulación	54
j)	Maniobras realizadas al potencial	55
II. Registro de actividad unitaria.		
a)	Animal	56
b)	Anestesia	57
c)	Procedimientos quirúrgicos	57
d)	Mantenimiento de la preparación	58
e)	Electrodos de estimulación y registro	58
f)	Estereotaxia	59
g)	Verificación electrofisiológica del electrodo del LC	60
h)	Estimulación y registro	60
i)	Verificación histológica de los sitios de registro y estimulación	61
j)	Análisis de datos	62
CAPITULO IV. RESULTADOS.		64
I. Potenciales provocados. Potencial provocado en el NSQ izquierdo por estimulación del LC izquierdo.		
		64
a)	Variación en la amplitud del potencial	64
b)	Efecto de la estimulación repetitiva	66
c)	Especificidad de la zona de registro	67
d)	Especificidad de la zona de estimulación	67
II. Potencial provocado en el LC izquierdo por estimulación del NSQ izquierdo.		
		68
a)	Especificidad del sitio de estimulación y proyección	68
b)	Efecto de la intensidad de corriente	71
c)	Efecto de la estimulación repetitiva	71

III. Actividad unitaria.	72
a) Registro de actividad unitaria espontanea en el NSQ.	
IV. FIGURAS	75
CAPITULO V. DISCUSION.	97
I. Potenciales provocados	97
II. Actividad unitaria	110
III. Comentario final	115
IV. Conclusiones	123
REFERENCIAS.	124

CAPITULO I INTRODUCCION

I. LOCUS COERULEUS

a) CITOLOGIA.

El locus coeruleus (LC), es un grupo celular de coloración negroazulada localizado en la porción dorsolateral del metencéfalo rostral y del mesencéfalo caudal del tallo cerebral (Russell, 1955; Kappers et al., 1960), por debajo del piso del cuarto ventrículo, lateralmente a la sustancia gris periacueductal (SGP), medial al pedúnculo cerebeloso, y ventral a la raiz y al núcleo mesencefálico del nervio trigémino (Cintra et al., 1982). Este núcleo ha sido descrito en todas las especies de mamíferos (Russell, 1955; Sano, 1941).

El LC es un conglomerado de neuronas que contienen noradrenalina (NA) (Ungersted, 1971; Dahlstrom and Fuxe, 1964). Estas neuronas han sido estudiadas en detalle con técnicas de Nissl, Golgi (Cintra et al., 1982), fluorescencia de catecolaminas, y métodos inmunohistoquímicos. Hay estudios de microscopía de luz en la rata, donde se usan anticuerpos a dopamina-beta hidroxilasa (DBH), enzima final de la síntesis de la noradrenalina. También se ha empleado el método de transportación retrógrada de la peroxidasa del rábano (HRP) o

trazadores fluorescentes (Foote et al., 1983; Gustafson y Moore, 1985), autorradiografías (Pickel et al., 1974; Jones y Moore, 1977; Jones y Yang, 1985), fluorescencia histoquímica (Ungerstedt, 1971; Lindvall et al., 1974; Moore, 1978; 1979), inmunohistoquímica (Swanson y Hartman, 1975).

Grzanna y Molliver, en 1980, usando el método de anti-dopamina beta-hidroxilasa (anti-DBH), hacen un estudio morfológico en detalle de las neuronas de este núcleo. Ellos observan cuatro sectores diferentes pero contiguos, formando parte del LC de la rata: 1) el LC propiamente dicho, idéntico al descrito por Swanson como la división dorsal del LC, 2) el grupo celular A4, descrito por Dahlstrom y Fuxe en 1964, 3) una parte ventral, idéntica a la descrita por Swanson en 1976, y 4) un grupo de células no identificadas previamente, que reaccionan a DBH y se extienden por delante del LC propiamente dicho (Foote et al. 1983).

Shimizu e Imamoto en 1970, en un estudio con la técnica de Golgi en LC de ratas, describen tres tipos de células en el núcleo: las fusiformes de tamaño medio, las multipolares de tamaño medio y las pequeñas células ovales. Las neuronas del LC, poseen una gran cantidad de espinas en el soma. La estructura interna de estas espinas es semejante a la encontrada en las sinapsis axo-somáticas, mostrando vesículas esféricas mezcladas ocasionalmente con gránulos y vesículas aplanadas. El tamaño

del soma de las neuronas, alcanza su máximo dos semanas después del nacimiento, y decrece su tamaño después de este periodo conforme avanza el crecimiento del animal. El decrecimiento en el tamaño de las neuronas adultas puede ser correlacionado con la formación de protrusiones citoplasmáticas. Las células fusiformes se agrupan en paquetes sobre todo en el polo caudal del LC. Además, describen que el neuropilo contiene un gran número de sinapsis axodendríticas y axosomáticas. Por otro lado, en sus secciones de Golgi, suponen tres orígenes para las fibras aferentes: 1) axones colaterales que se originan en células nerviosas de tamaño medio, 2) arborización axonal de las pequeñas células ovales, 3) fibras procedentes de la parte dorso lateral de la formación reticular. Este trabajo representa uno de los primeros esfuerzos por caracterizar el neuropilo y la sinaptología del LC.

Noboru M. et al., en 1970, trabajando en LC de conejo encontraron una gran correspondencia con LC de rata, en cuanto a la forma oval y fusiforme de sus neuronas con modesto citoplasma perinuclear, un bien desarrollado retículo endoplásmico rugoso y un prominente aparato de Golgi asociado con vesículas agranulares. En el neuropilo, observaron frecuentes sinapsis axodendríticas en bolsa que más frecuentemente contenían agrupaciones de vesículas claras redondas alrededor de vesículas aplanadas. Cuerpos subunitivales densos fueron vistos postsinápticamente. Las sinapsis axosomáticas fueron poco

frecuentes. En los dos tipos de sinápsis se observó un corazón de las vescículas poco denso. Degeneración sináptica electrodensa y escasa fue observada ipsilateralmente en el LC de conejos con lesiones del area supramamilar y de hipotálamo posterior. No se encontró degeneración sináptica axosomática. En un conejo con una gran lesión del area supramamilar y del hipotálamo posterior, un pequeño número de finas fibras degeneradas, pudieron ser trazadas con técnica de Nauta, dentro de la substancia gris periacueductal, cerrando el polo rostral del LC.

Con lo anterior ellos concluyen que el estudio refuerza con evidencias de microscopia electrónica, la idea de la existencia de fibras que descendiendo del hipotálamo terminan en el LC, quedando por precisar el sitio de origen y las vías seguidas por dichas fibras.

Más tarde Shimizu et al. (1974), también con la técnica de Golgi, trabajando con ratas de diferentes edades, reportan dos tipos principales de células en el LC: las fusiformes de tamaño medio que ocupan la región dorsocaudal del núcleo, y las células multipolares pequeñas que se distribuyen en la parte ventral. Posteriormente (Shimizu 1979), en un estudio de microscopia electrónica, demuestra la existencia de contactos dendrodendríticos y dendroaxónicos entre células que contienen noradrenalina, así como evidencias de autorreceptores, y brazos

dendríticos en estrecho contacto con vasos sanguíneos, lo cual sugiere alguna influencia funcional probablemente de actividad neurohumoral sobre el LC.

En 1972, Maeda et al., en un estudio de histofluorescencia, describen dos tipos de neuronas catecolaminérgicas en el LC del gato: unas grandes y otras pequeñas. Léger y Hernandez-Nicaise en 1980, en estudios de microscopia de luz y electrónica en el LC de gato, describen tres tipos celulares de acuerdo a su tamaño: medianas, tamaño intermedio y pequeñas. De ellas piensan que probablemente las medianas corresponden a una clasificación más grande de neuronas catecolaminérgicas, mientras que las pequeñas representarían interneuronas locales no monoaminérgicas. Los dos tipos de células medianas comprenden neuronas catecolaminérgicas, pero la de tamaño intermedio propiamente dicho tendría un grupo indol.

Hubbard y DiCarlo en 1973, estudian cuerpos celulares con microscopia de fluorescencia en el LC del mono ardilla y notan dos tipos celulares: uno de forma oval localizado en la porción dorsal del núcleo, el otro fusiforme y localizado en la región ventral.

Pfister y Danner en 1980, usando técnicas histoquímicas de fluorescencia y Golgi rápido, examinaron el LC de rata. Con Golgi distinguen tres tipos de neuronas: neuronas poligonales con espinas somáticas, neuronas fusiformes y pequeñas neuronas sin espinas. El análisis de fluorescencia revela que las neuronas

poligonales son las que contienen monoaminas en el LC.

Groves y Wilson en 1980, estudian el LC de la rata con microscopia electrónica, en un análisis cuantitativo revelan que la mayoría de las aferentes al LC, hacen sinapsis sobre dendritas o sobre apéndices semejantes a las espinas derivados del soma y de las dendritas. En un segundo estudio en el mismo año, los autores examinaron el sistema celular intrínseco del LC, notando que las terminales sinápticas catecolaminérgicas sobre el LC provienen de axones colaterales recurrentes del LC y también de inervación catecolaminérgica externa.

Cintra et al., en 1982, mediante la técnica rápida de Golgi y la técnica de Nissl, reconocieron tres tipos de neuronas en el LC de rata: fusiforme, multipolar y ovoides. Efectuaron en ellas un estudio morfométrico y encontraron un decremento significativo de la densidad de espinas entre los 30 y 90 días de edad en las dendritas primarias y secundarias, a lo cual siguió un aumento de densidad de espinas entre los 90 y 220 días.

B) AFERENCIAS Y EFERENCIAS.

La amplia distribución de las proyecciones tanto aferentes como eferentes de este núcleo lo coloca en una posición excepcional entre otros núcleos cerebrales y sugiere un rol de acción global del mismo dentro del Sistema Nervioso Central (SNC)

(Ungerstedt, 1971 y Amaral y Sinnamon, 1977).

La información sobre aferencias al LC ha sido obtenida con cinco tipos de estudios: 1) inyección de peroxidasa del rábano (HRP) con determinación de neuronas marcadas retrógradamente, 2) inyección de aminoácidos trititados dentro de otros núcleos con observación posterior de terminales marcadas ortodrómicamente, 3) la localización de varios tipos de receptores, implicando una aferencia química apropiada de estas neuronas, 4) la observación de un transmisor específico en fibras y terminales del LC y 5) la demostración de enzimas degradativas para cada transmisor particular en las neuronas del LC (Foote et al., 1983).

El LC es un centro de convergencia que recibe inervación proveniente de diversas regiones. Entre estas están incluidos los núcleos del rafe, la sustancia gris central, la formación reticular, los núcleos vestibulares y núcleos del tracto solitario, el núcleo fastigio del cerebelo, las zonas marginales de la médula espinal, las áreas hipotalámicas dorsomedial, paraventricular y lateral, los núcleos de la estria terminalis, la región preóptica, el núcleo ventral de la amígdala, la corteza insular, los núcleos ventrolateral y parafascicular talámicos, así como la sustancia negra (Sakai et al., 1977; Cedarbaum y Aghajanian, 1978; Clavier, 1978).

Patrick W. y Mantyh en 1982, encontraron neuronas marcadas en el LC después de inyecciones de pequeñas cantidades de peroxidasa del rábano en sustancia gris periacueductal (SGP), en

monos adultos. Las neuronas marcadas ,fusiformes, de 15-18 micrometros, se encontraron formando un apretado acúmulo localizado ventralmente a la SGP e inmediatamente lateral al núcleo dorsal de Gudden. La mayoría de las neuronas marcadas se encontraron ipsilaterales al sitio de administración, y solo unas pocas contralaterales. De la misma manera las neuronas marcadas en el subarulaus fueron escasas.

Con respecto a las eferencias , la literatura es masiva. Métodos inmunohistoquímicos para catecolaminas, han proporcionado nuevos conocimientos dentro de la distribución de estas fibras , sobre todo en el neocortex donde son de muy fino calibre. También se ha utilizado la inyección de aminoácidos trazados dentro del LC, con el correspondiente trazado de las eferencias (Foote et al.1969) hacia corteza, tálamo y otras áreas cerebrales.

Loizou en 1969, puso de manifiesto que una misma neurona del LC puede inervar varias regiones de la corteza cerebral en los dos hemisferios.

Ungerstedt en 1971, demostró que una sola neurona del LC puede ejercer simultáneamente su influencia en diversas áreas del cerebro.

Waterhouse et al., en 1983 inyectando HRP en cortezas frontal, sensorial, motora y occipital de ratas Long-Evans, observaron que la proyección en el LC de las neuronas corticales, se concentraban en el tercio caudal de la división dorsal del LC ipsilateral y en una proporción menor al 5 % del total de las

células marcadas, en el LC contralateral.

La búsqueda de una organización de las propiedades de las proyecciones eferentes del LC se va complicada con el reciente descubrimiento de una subpoblación de neuronas del LC que contienen neuropéptido Y (NPY) (Lundberg et al., 1980; Hunt et al., 1981; Hokfelt et al., 1983 a,b; Everitt et al., 1984) y con la demostración de que algunas de estas neuronas proyectan al cerebro anterior y a la médula espinal (Gustafson y Moore, 1985; Holata et al., 1985; Sawchenko et al., 1985). Esto crea la posibilidad de que la presencia o ausencia del NPY en neuronas noradrenérgicas del LC al reflejarse en las proyecciones eferentes de sus células determine una organización quimiotrópica de las mismas.

Allen et al., en 1983 y DeQuidt et al., en 1986 a, b; observan que el cerebelo y el talamo que reciben extensas aferencias del sistema noradrenérgico del LC (sist. NA-LC), contiene solo pequeñas cantidades de NPY. Mientras que la base del cerebro anterior, la neocortaza y el hipotalamo contienen importantes plexos axonales con NPY los cuales estan organizados de una manera muy semejante a la inervación noradrenérgica de estas areas.

Gustafson, en 1986, trabajando en rata, encuentra que la mayor concentración de neuronas con NPY se encuentra en un nivel intermedio del LC, donde el nucleo alcanza su mayor altura dorsoventral. La mayoría de las células son observadas en la

parte dorsal compacta del LC, y solo ocasionalmente se encuentran neuronas marcadas en la división ventral.

Las neuronas con NPY de esta zona, se encuentran densamente empaquetadas, son multipolares de aproximadamente 15 a 20 micrómetros de diámetro, muchas de las neuronas inmunoreactivas en el LC dorsal, están orientadas en una dirección dorsolateral o ventromedial. En contraste las pocas neuronas con NPY encontradas en la parte ventral del LC no tienen una orientación definida, están menos densamente empaquetadas y su tamaño es de aproximadamente 30 a 40 micrómetros en el eje mayor.

En el polo caudal del LC, las neuronas con NPY están distribuidas a diferentes niveles y la mayoría son fusiformes.

Ocasionalmente se encuentran neuronas con NPY en la cola del LC, la cual se extiende a lo largo del piso del IV ventrículo en el velo medular anterior.

Posteriormente, el mismo autor, marcando con HRP y fluorogold encuentra que en general el número y la distribución de neuronas marcadas retrógradamente luego de inyecciones de las mencionadas sustancias aplicadas en las siguientes zonas: porción mediolateral y rostrocaudal de la neocorteza, corteza cerebelosa, región rostrocaudal del tálamo, hipocampo dorsal e hipotálamo; es la misma para ambas sustancias. La excepción se presenta en el caso de la inyección en la neocorteza donde el FG marca muchas más neuronas que la HRP.

Con estas técnicas el origen de las fibras distribuidas en

la neocorteza, parece encontrarse en la porción compacta del LC, ya que solo ocasionalmente se encuentran neuronas marcadas en la división ventral. Por otro lado las fibras que se distribuyen en el cerebelo provienen de neuronas marcadas en la mitad ventral del LC dorsal y de la división ventral del LC.

Luego de inyecciones talámicas, las neuronas marcadas se concentran en la parte dorsal del núcleo, al igual que luego de inyecciones en el hipocampo, aunque en este caso las células marcadas ocupan la mitad rostral del LC.

Cuando se inyecta el hipotálamo, el autor reporta mucha dificultad para restringir al trazador a esta zona; en este caso parece que se marcan fibras de paso del haz medial del cerebro anterior las cuales son destinadas a la corteza. La zona del LC donde se encuentran más neuronas marcadas es semejante a la marcada cuando la inyección se aplica a la neocorteza, y la mayor diferencia con este último tipo de inyección, es que el polo anterior de la porción compacta del LC resulta con muchas más neuronas marcadas.

Con lo anterior el autor concluye que los cuerpos neuronales que contienen NPY están ampliamente distribuidos dentro del LC comprendiendo casi la mitad del total de la población celular del núcleo LC. SE trata de neuronas que exhiben morfología heterogénea. La distribución y número de neuronas del LC marcadas después de inyecciones de FG y HRP varía dependiendo del sitio de inyección dando por resultado un patrón distintivo de

marcaje celular con algunas sobreposiciones entre la población. Así, la parte dorsal compacta se marca por inyecciones neocorticales, talámicas e hipotalámicas. Inyecciones en hipocampo marcan la mitad rostral de la parte dorsal, e inyecciones en cerebelo, la porción ventral del núcleo.

El mayor número de células doblemente marcadas se observa luego de inyecciones en la neocorteza, siguen en importancia inyecciones hipotalámicas, talámicas, hipocámpales y cerebelosas, respectivamente.

C) FISILOGIA.

La actividad unitaria espontánea de las neuronas del LC en animales anestesiados, es de baja frecuencia, aproximadamente de 1 a 30 HZ, dependiendo de la anestesia usada (Foote et al., 1983; Anston-Jones et al., 1984). Se ha observado una disminución de los trenes de potenciales de acción en respuesta a estímulos externos como sonidos, luz, palpación, presentación de comida o estímulos desconocidos, todo lo cual parece estar directamente relacionado con el nivel de vigilancia del animal (Anston-Jones et al., 1984).

Nakamura e Iwama en 1975, determinaron que la velocidad de conducción de las fibras del LC es en la rata, de 0.4 a 1.3 metros por segundo o menos, lo que es concordante con el diámetro delgado de los axones: 0.5 a 1.0 micrómetros (Fuze et al., 1968).

Watabe y Satoh, en 1980, demostraron que existe una

sincronización en la descarga de neuronas de un LC con las del otro LC, lo que fue interpretado como evidencia electrofisiológica de una vía de proyección de un LC hacia el otro.

Los mismos autores en 1982, provocaron una respuesta en la actividad unitaria de neuronas del LC de gato, ocasionada por destellos luminosos o por estimulación del quiasma óptico, núcleo geniculado lateral, colículo superior y corteza visual. Las respuestas estuvieron caracterizadas por latencias largas lo que les sugirió que las aferencias visuales que recibe el LC son de naturaleza polisináptica.

Snyder y Reis en 1975, provocaron una elevación significativa de la presión arterial una hora después de lesionar electrolíticamente ambos LC en ratas, dos horas después los valores regresaron a la normalidad, lo que se acompañó con taquicardia progresiva hasta que sobrevino una muerte súbita.

Ward y Gunn en 1976, al estimular el LC de gatos durante dos minutos con cincuenta pulzos por segundos, lograron un aumento de hasta cuarenta milímetros de mercurio en la presión arterial, el cual se mantuvo mientras duró la estimulación, en la mayoría de los casos estuvo asociado con bradicardia. Así mismo, observaron un aumento en la frecuencia respiratoria durante el periodo de estimulación.

Svensson et al. en 1979, en un estudio para determinar la posible relación entre la actividad noradrenérgica

del LC y la presión sanguínea, no encontraron una relación consistente entre la frecuencia de descarga de las neuronas del LC y la presión sanguínea. Reportan, sin embargo que la inyección de un volumen de sangre deprimió la frecuencia de descarga de las neuronas del LC, mientras que la extracción de un volumen de sangre incrementó la frecuencia de descarga. Ellos infieren entonces que el volumen sanguíneo, y no la presión sanguínea, es el estímulo efectivo para alterar la actividad de las neuronas del LC.

Takigawa et al. en 1977, ya habían determinado que el efecto anteriormente mencionado era revertido por vagotomía, indicando que la estimulación vagal tanto fisiológica como eléctrica, produce respuesta del sistema noradrenérgico del LC.

Ya en 1959, Coen y Wang, registrando neuronas del LC, encontraron un aumento en su frecuencia de descarga durante la inspiración.

En 1975, Osumi et al., efectuaron lesiones electrolíticas bilateralmente en el LC de rata, y después de cuatro días de efectuadas observaron la aparición de hiperdipsia que persistió a su vez cuatro días, recuperando luego valores normales. También reportan que a partir del segundo día de la lesión y durante cuatro días, los animales redujeron significativamente su ingesta de comida.

Redmond et al. en 1977, lesionando bilateralmente

el LC de monos, reportaron la aparición de hiperdipsia e hiperfagia, lo que repercutió en un importante aumento de peso desde los primeros días de la lesión, en tanto que los animales control, no lo presentaron. Tanto la hiperfagia como la hiperdipsia, duraron aproximadamente cinco meses. La cantidad de comida ingerida por los monos lesionados llegaba a comprometer su capacidad ventilatoria a expensas de una marcada distensión abdominal.

Por otro lado, los resultados obtenidos por Jouvet (1969) sugieren que las células noradrenérgicas del LC pueden desarrollar un papel en el sueño paradójico. Este autor mostró que la destrucción bilateral del LC de gatos produjo la supresión total de sueño paradójico.

Chu y Bloom, en 1973, presentaron evidencias que indican una correlación directa entre la actividad de las neuronas del LC y la ocurrencia espontánea de las etapas del sueño. Así, ellos registraron la actividad espontánea de neuronas del LC de gato durante los estados de sueño y vigilia. Las neuronas descargaron lentamente durante los periodos de adormilamiento (4-5 espigas por segundo) y de sueño de ondas lentas (4.2 espigas por segundo) y descargaron con salvas rápidas asociadas a los movimientos oculares rápidos durante el sueño paradójico (10 espigas por segundo) siendo más activas durante un estado de atención (11.6 espigas por segundo).

Cespuglio et al. en 1982, utilizando la técnica de enfriamiento circunscrito con enfriamiento moderado (+10 °C), permite la inactivación específica de sinápsis y genera actividad de algunos componentes anatómicos. demostraron que la inactivación del LC principal (LCp), en el gato, es inmediatamente seguido por sueño de ondas lentas (SOL) y sueño paradójico (SP). El enfriamiento bilateral de la parte rostral y dorsal del LCp induce en todos los casos SOL, el cual en un 50 a 60 % de los casos es seguido por SP. Enfriamientos unilaterales de ésta area, induce el mismo efecto en el 92% de los casos. Enfriamientos unilaterales de la parte ventral del LC (LC alfa y peri LC alfa) durante el SP, induce despertar con actividad cortical rápida y gran amplitud del electromiograma del cuello.

Anlezark et al. en 1973, mediante una sencilla prueba compararon la capacidad de aprender de ratas control con ratas cuyos LC fueron lesionados. Los animales fueron privados de alimento hasta alcanzar el 90% de su peso normal. En un corredor en forma de L se probó durante diez y seis días la rapidéz con la que alcanzaron la comida a partir del brazo largo. El grupo de ratas lesionadas conservó su latencia del primer día (40 segundos aproximadamente) durante los 11 primeros días, bajandola a 20 segundos en los días posteriores. El grupo de ratas control bajó su latencia de 40 a 15 segundos y a 5 segundos el sexto día, siendo las latencias de 0 segundos durante los restantes días de

prueba. Interpretaron sus resultados como una deficiencia en la capacidad de aprender debida a la lesión del LC.

Roberts et al. en 1976 reportaron que ratas lesionadas en el haz noradrenérgico dorsal y entrenadas previamente para obtener una recompensa alimenticia después de recorrer un pasillo, mostraron respecto a los animales control, un aumento significativo en el tiempo necesario para realizar la misma tarea en condiciones similares pero modificadas por la introducción de estímulos adicionales: visual y tátil. Sus resultados los interpretaron como un aumento en la facilidad de distracción del animal debido a la lesión, sugiriéndose que el sistema noradrenérgico proveniente del LC pueda participar en mecanismos de atención.

Valley et al. en 1982, encontraron que la estimulación del LC produce mejoría en la adquisición del condicionamiento operante gratificado con comida, estando o no lesionado el haz noradrenérgico dorsal. En un primer experimento, lesionan el haz noradrenérgico dorsal por una inyección local, bilateralmente aplicada, de 6-hidroxidopamina, ocho días después estimulan el LC de las ratas. Cuatro semanas después de la estimulación las ratas fueron probadas para la tarea operante. Se usaron tres grupos control: ratas no lesionadas pero estimuladas, lesionadas pero no estimuladas y no lesionadas pero estimuladas. Un significativo decremento en la adquisición fue observado en

ratas estimuladas y lesionadas durante los últimos 40 minutos de la misma. En el segundo experimento, el LC propiamente dicho fue destruido por inyección bilateral local de 6-hidroxi dopamina, y la región del LC fue estimulada 15 días después. Se utilizaron también tres grupos controles. Todas las ratas fueron probadas cuatro semanas después para valorar la adquisición de la tarea operante, y en ellas se vio que la lesión del LC atenua los efectos benéficos de la estimulación. Sus resultados los interpretaron como que el sistema noradrenérgico del LC está envuelto en efectos de largo plazo, pero que la proyección rostral pasando a través del haz dorsal no está envuelta en el efecto observado.

Verleye y Bernet en 1983, estudiando los efectos de las lesiones bilaterales del haz noradrenérgico dorsal (HND) y del LC sobre la conducta de la rata sometida a diversas situaciones ansiógenas, observaron que las ratas con lesión bilateral del haz noradrenérgico dorsal, defecaban menos y deambulaban más en campo abierto, que aquellas lesionadas bilateralmente del LC y que aquellas que fueron falsamente operadas. También notaron que no se adaptaban a los estímulos novedosos, que la lesión del HND induce un descenso en los niveles corticales de noradrenalina y en el nivel de catecolaminas hipotalámicas, mientras que la lesión del LC produce un 30 % menos de noradrenalina en cerebro anterior. Estos resultados se discutieron teniendo en cuenta las hipótesis sobre la función del haz noradrenérgico dorsal y

revelaron una discrepancia entre los efectos inducidos por la lesión de las fibras del HND y los producidos por lesión bilateral del LC sitio de origen del HND. Con lo anterior concluyeron que elementos no-noradrenérgicos, fibras de paso que no viajaran junto con las del HND, así como terminales en la región del LC podrían ser los responsables.

Pucilowski et al. en 1986, aplicando microinyecciones de 6-hidroxi dopamina (6-OHDA) en el LC de ratas machos, provocaron una importante depleción de noradrenalina mesencefálica y ocasionaron un aumento en la agresión inducida por apomorfina, medida por el tiempo en que el animal permaneció en postura de lucha, por el número de vocalizaciones y por las mordidas dadas al rival. Con esto concluyeron que el LC juega un papel inhibitorio en la conducta agresiva inducida por apomorfina.

Andrade y Aghajanian en 1984, buscando los factores determinantes de la inhibición post-estimulación que presentan las neuronas del LC luego de estimulación antidrómica, registraron actividad unitaria extracelular, encontrando que los intervalos interespigas dependió críticamente de la invasión antidrómica de las células bajo estudio y poco de la intensidad del estímulo. Sus resultados sugieren que la inhibición post-estimulación depende de una autoinhibición, descartando la hipótesis de interacción local inhibitoria a través de axones colaterales o dendritas de otras neuronas del LC.

Rasmussen et al. en 1985, registrando actividad unitaria de

neuronas del area del LC en gatos con libre movimiento , luego de reconocer a las neuronas por la larga duraci3n de sus potenciales de acci3n - 2 milisegundos o m3s- efectuaron registros control durante la vigilia activa, la vigilia tranquila, el suefio de ondas lentas, y el suefio parad3jico, observando que la actividad de 3stas neuronas no mostr3 ninguna relaci3n con la actividad en si, mientras que en respuesta a estimulaci3n sensorial simple las neuronas mostraron una corta latencia y corta duraci3n de la respuesta excitatoria. Asi como que, al aplicar estmulos nociceptivos, la actividad de las neuronas del LC se increment3 sobre los altos valores alcanzados en la vigilia activa. Estos datos apoyan la idea del papel jugado por el LC para la respuesta adaptativa al medio ambiente y a retos psicol3gicos.

En 1986, los mismos autores, trabajando con actividad unitaria de neuronas presumiblemente noradren3rgicas del area del LC en gatos con movimiento libre, sometiendo a los animales a dos condiciones paradigm3ticas: respuesta condicionada emotiva (RCE) y comida recompensa condicionada (CRC), y a manipulaciones farmacol3gicas; observaron que la actividad unitaria se incrementaba en forma importante si durante la ejecuci3n de la prueba de RCE se aplicaba un estmulo nociceptivo, hecho en marcado contraste con la aplicaci3n de un estmulo pasado de recompensa , durante la ejecuci3n de CRC. Las unidades noradren3rgicas del LC incrementan en forma importante su actividad en respuesta a una estimulaci3n que predice la

ocurrencia de un evento doloroso, pero no lo hacen ante un estímulo que predice un evento gratificante. La administración de una droga ansiolítica -diazepam- no tuvo efecto significativo sobre la actividad espontánea de estas neuronas, mientras que la administración de una droga ansiogénica -yohimbine- incrementó significativamente la actividad espontánea de las mismas. Los autores interpretan sus resultados diciendo que las neuronas noradrenérgicas del LC juegan un rol en el condicionamiento aversivo, pero ninguno en el gratificante, lo que es coincidente con el rol que las mencionadas neuronas juegan en la ansiedad.

D) SIGNIFICADO FUNCIONAL DE LA ACTIVIDAD DEL LC.

Específicamente, el sistema noradrenérgico del LC, parece que está involucrado en el control de la conducta -sexual, ingesta de comida y líquidos, memoria, respuesta al estrés, hipertensión, angustia, y otras-, aumentando la actividad del sistema nervioso central (SNC) comprometida por estímulos externos rápidamente cambiantes y/o podría estar funcionando como un novedoso detector en las reacciones de ansiedad y alarma (Foote et al.1983) (Walinder et al.1983) (File et al.1978).

Korf et als. en 1973, estudiaron los efectos del estrés en el recambio de norepinefrina en la corteza cerebral y el hipocampo, en ratas con lesión aguda unilateral del área del LC. Así, ven que el stress induce en la corteza cerebral un aumento

en la velocidad de desaparición de la norepinefrina después de la inhibición de la síntesis de catecolaminas con alfa-metil-p-tirosina, y un incremento en la formación de sulfato de 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol que es el metabolito más abundante de norepinefrina en el cerebro. Estos cambios fueron bloqueados en la corteza ipsilateral con lesión unilateral del LC. Interpretan sus resultados diciendo que el LC juega un rol importante mediando los efectos del stress sobre el metabolismo de la norepinefrina en la corteza cerebral.

Amaral y Sinnamon en 1977, especulando sobre la importancia que éste núcleo tiene para el funcionamiento integral del organismo, dicen que la influencia amplia y generalizada del LC se refleja muy ligeramente en la conducta bajo diversas condiciones normales. En la mayoría de éstas situaciones, la pérdida del LC difícilmente se notaría, no ocurriendo lo mismo bajo otras circunstancias, por ejemplo, estres intenso. La situación es análoga a la del animal simpatectomizado el que se comporta aparentemente normal en un ambiente tranquilo, mientras que es incapaz de efectuar un sinnúmero de ajustes pertinentes para sobrevivir en circunstancias estresantes. Así, los autores proponen que el LC es el equivalente en el sistema nerviosa central SNC de un ganglio simpático, cuyo órgano blanco es el cerebro.

II_ NUCLEO SUPRAQUIASMÁTICO.

a) CITOLOGÍA.

Los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) en los mamíferos han sido descritos como un conglomerado de pequeñas células redondas, que se encuentran situados a cada lado de la parte más ventral del III ventrículo y dorsalmente al quiasma óptico (Christ, 1969; Diepen, 1962) en su parte rostral y a la comisura supraóptica en su polo caudal.

van den Pol, en 1980, estudió en ratas la estructura del NSQ, con impregnaciones de Golgi, tinción de Nissl, HRP y microscopía electrónica. De esta manera observo que: 1) el volumen del núcleo es de aproximadamente 0.063 mm cúbicos y contiene un promedio de 3000 neuronas. 2) las células tienden a organizarse en dos regiones la dorsomedial y la ventrolateral; en esta última las células son más pequeñas y parecen agruparse en paquetes. En la región dorsomedial las células presentan aposiciones somáticas extensas que podrían corresponder a alguna especialización celular estas cadenas están generalmente orientadas en una dirección antero-posterior. 3) interpuestas entre las neuronas hay células de la glía con citoplasma rico en organelos, cuyos núcleos al igual que el de las neuronas del NSQ son a menudo invaginados y con múltiples nucleolos. 4) arborizaciones dendríticas escasas y simples, que en el borde del núcleo pueden viajar dentro de la región hipotalámica anterior

adyacente. En forma similar observa dendritas de células situadas externamente al NSQ que entran al núcleo. 5) que los axones del NSQ tiñen en forma pobre con Luxol blue, Loyez y Golgi, debido probablemente a su fino calibre. En general se trata de axones sin mielina que pueden dividirse dentro o arriba del núcleo, así como pasar a través dando colaterales o terminando dentro del NSQ. El Golgi, la HRP y las tinciones de plata revelan axones que conectan los NSQ izquierdo y derecho. 6) finalmente, el tipo de células encontradas incluye: bipolares, bipolar rizada, neuronas radiales, monopolaras y células espinosas. De lo anterior concluye, que el NSQ es un núcleo complejo, con subdivisiones reconocibles que contiene neuronas heterogéneas con varios tipos de arborizaciones dendríticas y un gran número de posibilidades de comunicación intercelular dentro del núcleo, que estarían dadas por dendritas presinápticas y somas, frecuentes circuitos axonales locales y posibles interacciones entre células cerradamente pegadas.

El NSQ se encuentra presente en distintas especies, sin embargo, hay entre ellas diferencias anatómicas.

Lydic et al., en 1982, estudiando el NSQ de cinco especies de mamíferos distintas (gatos, hamster, ratas, monos rhesus y monos arañas), con técnicas histológicas convencionales y gráficas computerizadas reconstruyeron en tres dimensiones el mencionado núcleo. Entre las cinco especies ellos encuentran marcadas diferencias. Así por ejemplo en las ratas observan un

plano rostro-caudal muy elongado, de 0.7mm, una expansión mediolateral de 0.3mm y una separación entre ambos núcleos de 0.3mm.

b) AFERENCIAS Y EFERENCIAS.

El NSQ recibe una entrada directa desde la retina.

Moore y Lenn, en 1972, describen esta en la rata. Utilizando inyecciones de leucina y prolina tritiada dentro de la cámara posterior del ojo, demostraron autorradiográficamente proteínas marcada en ambos NSQ, ipsilateral y bilateralmente. También, luego de enuclear a algunos animales, efectuaron un estudio con microscopía electrónica y observaron degeneración terminal en contactos sinápticos con pequeñas dendritas de neuronas del NSQ. Con lo anterior concluyeron que el tracto retinohipotalámico en la rata parece originarse en las células ganglionares de la retina y terminar sobre las pequeñas ramas dendríticas de neuronas del NSQ.

Esta vía es identificada en una gran variedad de mamíferos, incluidos los primates. En las especies examinadas, la proyección parece ser bilateral y termina principalmente en la parte ventral del cuerpo geniculado lateral, que termina en forma más importante en su propia parte ventral (Ribak y Peters, 1975, Swanson et al, 1974).

El sistema límbico proyecta desde el núcleo septal medial (Garris, 1979) y desde el subiculum anteroventral, a través del

tracto medial córticohipotalámico (Meibach y Siegel, 1977).

Otras aferentes al NSQ se originan del área preóptica (Swanson, 1976), de los núcleos ventromedial y arcuato (Meibach y Siegel, 1977 ; Zaborsky y Makara, 1979), y del área tuberal hipotalámica (Soper et al, 1976).

Los núcleos del rafe también proyectan al NSQ desde los núcleos dorsal y medial (Aghajanian et al, 1969; Saavedra et al, 1974; Fuxe, 1965). A su vez el NSQ proyecta fibras eferentes al sistema límbico, diencefalo, tronco cerebral e hipotálamo.

Berk y Finkelstein, 1981, reportan proyecciones al núcleo periventricular del tálamo y a la sustancia gris del mesencéfalo. Además, dentro del hipotálamo, a la porción parvocelular del núcleo periventricular, a los núcleos dorsomedial, ventromedial, y a la región posterior del hipotálamo.

Sofroniew y Weindel, en 1978, trabajando con ratón, rata y hamster, utilizando el método de la enzima inmunoperoxidasa, encontraron en las tres especies neuronas parvocelulares conteniendo vasopresina y neurofisiña, en la parte rostral de la región dorsomedial del NSQ. Los autores pudieron diferenciar las finas fibras originadas en estas neuronas, de las fibras de grueso calibre que contienen vasopresina y neurofisiña, las cuales se originan en neuronas magnocelulares de los núcleos supraóptico y paraventricular, las que pasan hacia el lóbulo posterior de la hipófisis. Además observaron que estas fibras originadas en las neuronas parvocelulares del NSQ no proyectan a

eminencia media ni al lóbulo posterior de la hipófisis, así como tampoco presentaron positividad a oxitocina. Por otro lado, un gran número de estas fibras hace contacto axo-somático con neuronas de sus cuatro áreas de proyección: 1) Septum lateral, 2) diagonal de Broca, y 4) Hipotálamo posterior y núcleo interpeduncular. Este tipo sináptico se da también entre las fibras que, cruzando la habénula lateral, llegan a través de la sustancia gris del mesencéfalo hasta el área del núcleo del tracto solitario.

De lo anterior los autores concluyen que la vasopresina y neurofisiina de las neuronas parvocelulares del NSQ no se liberan en el torrente circulatorio, pero pueden afectar neuronas en las áreas de proyección descritas.

En 1980 los mismos autores encuentran que las neuronas vasopresinérgicas comprenden en la rata aproximadamente un 17% de la población del NSQ, y se encuentran en mayor concentración en la región dorsomedial del mismo.

Por otro lado, el péptido intestinal vasoactivo (VIP) está presente en el NSQ de ratones y ratas (Loren et al, 1979), encontrándose en mayor concentración en la porción ventral del núcleo. Las neuronas que lo contienen son de tamaño menor que las vasopresinérgicas. Otros neuropéptidos encontrados comprenden: Oxitocina, LRH, sustancia P, encefalina, neurotensina, colecistoquinina, Beta-endorfina, ACTH y Alfa-MSH.

Finalmente, Watts y Swanson, 1986 y 1987, trabajando en ratas con la técnica PHA-L, la cual permite marcar fibras y el grupo celular que las da origen, estudiando las eferencias del NSQ, proponen seis vías. La más densa termina dorsalmente al NSQ en la zona subparaventricular, entre el área hipotalámica anterior y el núcleo periventricular. De esta vía algunas fibras continúan hasta terminar en la línea media, en núcleos talámicos posteriores. La segunda vía consiste en un pequeño número de fibras que cruza ventralmente las áreas retroquiasmáticas e hipotalámicas anteriores, y termina en el núcleo ventromedial.

La tercera vía cruza a través del área preóptica medial, a la cual parece inervar, y va a terminar en los núcleos talámicos paratenial y paraventricular, así como en el núcleo geniculado lateral, en la parte ventrolateral.

La cuarta vía consiste en fibras directas, desde la parte dorsomedial del NSQ al núcleo geniculado lateral, parte ventral. Estas fibras corren sobre el quiasma óptico y a lo largo de la parte dorsomedial del tracto óptico. Esta vía puede proveer de un flujo bidireccional de información, ya que se conoce que neuronas inmunorreactivas al NF y del núcleo geniculado lateral, parte ventral, proyectan a la región ventrolateral del NSQ (Swanson et al. 1984). Es probable así, que la vía mencionada, NSQ a cuerpo geniculado lateroventral, se encuentre involucrada en los cambios de fases de ritmos dependientes de la luz.

El quinto grupo de eferentes del NSQ está formado por un pequeño grupo de fibras que corre anterodorsalmente desde el NSQ a inervar la parte ventral del núcleo intermedio lateral, la continuación preóptica del lecho del núcleo de la estria terminalis, el núcleo paratenial y la parte rostral del núcleo paraventricular del tálamo. Esta proyección anterolateral termina en regiones que son comúnmente reportadas como límbicas. Cada una de las regiones descritas recibe además proyecciones de la zona supraventricular. Estas fibras pueden estar jugando un papel importante en la modulación de la función hipocámpal de la información, en el núcleo septolateral, y a lo largo del haz del cerebro anterior, lo que se considera importante para explicar el origen de la conducta.

Por último una pequeña cantidad de fibras salen rostrocaudalmente desde el NSQ. Estas fibras terminan difusamente de la siguiente manera: En primer término lo hacen en varias partes del área preóptica, las que han sido implicadas en la regulación de la sed, conducta reproductiva y termorregulación. En segundo término, lo hacen en la parte anteroventral del núcleo periventricular, el cual parece jugar un rol mayor en la liberación cíclica de gonadotropinas en la rata hembra.

Los autores concluyen que los resultados obtenidos en este estudio confirman sus trabajos anteriores basados en autorradiografía, con respecto a la distribución de las

proyecciones del NSQ, agregan nuevos detalles sobre las vías constituidas por estas fibras, y ponen el principal foco de atención sobre el denso campo terminal en la zona subparaventricular del hipotálamo. La observación de que las células de la zona subparaventricular proyectan esencialmente a las mismas regiones que el NSQ, solo que mucho más abundantemente, es quizá la más interesante aportación del presente estudio.

c) FISILOGIA.

El NSQ parece ser una de las estructuras básicas involucradas en la generación de ritmos biológicos.

Inouye et al., en 1979, trabajando con ratas, registraron actividad multiunitaria extracelular en distintas regiones del cerebro, simultáneamente. Utilizando una navaja de Halasz, aislaron el NSQ del resto del hipotálamo. Los electrodos se colocaron uno proximo o dentro del NSQ, y el otro en cualquiera de los siguientes sitios: rafe dorsal, formación reticular mesencefálica, núcleo caudado, sustancia negra, geniculado lateral, hipocampo, locus coeruleus, amígdala corticomedia, corteza frontal y corteza visual. Electrodo de tornillo para monitorear el ciclo sueño-vigilia fueron implantados en el craneo. Cuatro de los animales fueron enucleados bilateralmente y todos los animales experimentales sometidos a luz-obscuridad, o a obscuridad continua. Ellos encontraron una desincronización

de la actividad multiunitaria registrada en las distintas zonas cerebrales, después de crear la "isla" supraquiasmática, mientras que el registro de actividad multiunitaria dentro del NSQ conservó su ritmicidad circádica. Con lo anterior concluyeron, que la ritmicidad de la "isla" no depende de impulsos aferentes de otros lados en el cerebro.

Inouye y Kawamura, en 1981, trabajaron en ratas machos, en las que crearon a través del procedimiento ya descrito, una isla hipotalámica cilíndrica que contenía al NSQ. A cada animal le implantaron dos electrodos para registro de actividad multiunitaria, uno en alguna parte del cerebro por fuera de la isla, y otro, dentro de la isla. Los experimentos se realizaron bajo condiciones de obscuridad constante y luz constante. Observaron así, que la actividad multiunitaria registrada en varios sitios cerebrales externos a la isla, en ratas intactas, exhibía variaciones relacionadas con estados de sueño-vigilia, y con la hora del día. Más de la mitad de los registros presentaron una ritmicidad diurna. En estas mismas ratas, la actividad multiunitaria del NSQ fue relativamente independiente del estado de sueño-vigilia, mientras que, la diferencia en la frecuencia para el día y la noche fue muy grande. La ritmicidad diaria presentó un máximo en el mediodía, cuando el animal estaba dormido, y la actividad neural en otras áreas cerebrales era baja.

Por otro lado en ratas con isla hipotalámica, la ritmicidad

diurna en la actividad multiunitaria de afuera de la isla no pudo ser detectada. Mientras que dentro de la isla y en el NSG, persistió aún bajo condiciones constantes, mostrando un libre desarrollo de la ritmicidad, cuyo pico cambió gradualmente en relación a la hora del día. Cuando la vía retino-hipotalámica izquierda no fue cortada, la ritmicidad diaria en la actividad multiunitaria del NSG en la isla, que se encontraba en ritmo libre tanto en obscuridad constante como en luz constante, en general, se tornó inestable.

Las ratas fueron sometidas también a pulsos de luz, con los que observaron un profundo efecto sobre el mecanismo interno de la organización circádica. Así los pulsos de luz dados en la noche "subjetiva" temprana, causaron un retardo de fase, y los pulsos dados en la noche "subjetiva" tardía causaron un adelanto de hasta tres horas.

De lo anterior, los autores concluyeron que: la ritmicidad circádica neural fuera de la isla hipotalámica desaparece sin excepción después del aislamiento del NSG. Y que, las estructuras neurales que no pertenecen al NSG no son esenciales para la generación y la regulación de la ritmicidad circádica.

Stephan et al., en 1972, trabajaron en ratas ovariectomizadas colocadas en cajas individuales con libre acceso a comida, agua y movimiento. Los animales fueron sometidos a ciclos de luz-obscuridad o a luz constante. Los autores

combinaron en los animales las siguientes maniobras experimentales: lesión bilateral del NSQ, lesión unilateral del NSQ combinada con enucleación ipsilateral en unos animales, y con enucleación contralateral en otros, lesión bilateral de área preóptica medial, enucleación bilateral, enucleación unilateral, y animales intactos. Observaron que los animales con lesión bilateral del NSQ presentaron una completa abolición de la ritmicidad en la ingesta nocturna de líquidos, una reducción de más del 50% de "running wheels" y la eliminación completa del movimiento nocturno no detectándose una periodicidad circádica sobre el "Esterline-Angus". Mientras que la presencia de todo o una parte de los NSQ, fue suficiente para mantener al menos algún grado de ingesta nocturna de líquidos y actividad locomotora. Con lo anterior concluyeron que: la lesión bilateral electrolítica del NSQ elimina permanentemente ritmos circádicos y ritmos nocturnos en las conductas de ingesta de agua y locomoción, y que la generación de ritmos de 24 horas para estas conductas y la sincronización de estos ritmos a los ciclos de luz-obscuridad o de iluminación experimental constante, pueden estar siendo coordinados por neuronas de la región del NSQ en el cerebro de la rata.

Eastman et al., en 1983, realizaron un estudio a largo plazo en ratas, de la ritmicidad circádica de la temperatura y el sueño, después de lesionar el NSQ. La temperatura cerebral fue medida con un termistor, y el ciclo sueño-vigilia se registró a

través de un electroencefalograma (EEG) continuo y se almacenó usando un sistema computarizado. Los animales experimentales fueron expuestos a ciclos luz-obscuridad antes de la cirugía, y posteriormente se sometieron a luz tenue constante. En estadios muy tardíos del experimento algunos de ellos fueron expuestos nuevamente a ciclos de luz-obscuridad. Los autores observaron que: 1) las ratas con lesión completa del NSQ no exhibieron ritmicidad circádica en luz tenue constante. 2) las ratas con lesión parcial del NSQ generaron ritmicidad circádica leve y variable en ambos ciclos; y que al ser expuestas a nuevos ciclos luz-obscuridad, sobre el final del experimento, algunos animales mostraron una amplitud reducida y una alteración en la forma de la onda, en relación a ratas normales control. 3) un pequeño número de ratas con lesión parcial del NSQ, mostraron una recuperación de la función. Así, sus resultados no apoyaron estudios de otros autores que hablaban de distintos sitios anatómicos para el control de la ritmicidad circádica de la temperatura y el sueño, ni a aquellos que atribuían una localización externa al NSQ al oscilador que controla la temperatura.

Brown-Grant et al., en 1977, efectuaron lesiones extensas del NSQ, las cuales produjeron una pérdida de la ovulación en la rata hembra. Estos animales mostraron un alto nivel de receptividad sexual. Con un 75% de lesión en NSQ fue suficiente

para producir anovulación, caracterizada por una citología vaginal de cornificación constante -estro persistente (EP)-. De lo anterior, los autores sugieren que la falta de ovulación puede estar relacionada con la cancelación de la variación diaria en la sensibilidad a los efectos facilitadores de las hormonas esteroides.

Raisman y Brown-Grant, en 1977, lesionaron en distintos porcentajes los NSQ de ratas hembras, causando alteraciones de la ovulación espontánea. Ellos observaron que: 1) la concentración plasmática de corticosterona durante la mañana se encontraba anormalmente alta, y en la tarde, anormalmente baja. 2) la respuesta a estrés no se encontraba alterada. 3) la actividad de la serotonina N-acetil transferasa de la glándula pineal se encontraba anormalmente alta en los animales sacrificados durante el día y anormalmente bajos en aquellos sacrificados en la noche. 4) los animales presentaron EP. 5) la actividad voluntaria en la rueda giratoria, no fue alterada consistentemente, pero, se distribuyó entre los periodos de luz y oscuridad, como normalmente ocurre en los animales íntegros. En forma semejante la ingesta diaria de agua y comida que normalmente ocurre durante el periodo de oscuridad, se redujo. 6) la incidencia de estas asociaciones de anomalías, fue baja en ratas lesionadas que continuaron ovulando espontáneamente. Con lo anterior, concluyeron, que la lesión del NSQ que resulta en fallas de la ovulación se acompaña generalmente de consistentes anomalías en otras funciones que

normalmente son influidas por el ciclo luz-obscuridad.

Nishino et al., en 1976, trabajando en rata albina, activaron ambos nervios ópticos tanto con luz como eléctricamente y registraron con una micropipeta la actividad unitaria de neuronas del núcleo supraquiasmático. Así, observaron que: 1) la frecuencia de descarga fluctuó desde 1 a cerca de 10 por segundos, pero generalmente estuvo entre 4 y 8 espigas por segundo, variando de una célula a otra en el mismo animal. 2) La estimulación repetitiva del nervio óptico o la luz actuando sobre los ojos, incrementó la actividad de aproximadamente la mitad de las neuronas examinadas, mientras que, un 23% mostró clara inhibición con el mismo estímulo. 3) la frecuencia de descarga mostró a veces algunas oscilaciones de corta duración entre 3 y 5 minutos, pero en otras ocasiones la misma neurona mostró una frecuencia baja constante. Los autores concluyeron que: su trabajo presenta evidencias electrofisiológicas de la relación entre los ojos y el NSQ; y que la luz excita ciertos grupos neuronales en el NSQ incrementando su frecuencia de descarga.

van den Pol, en 1986, haciendo un estudio inmunocitoquímico para identificar sustancias neuroactivas en los botones presinápticos del núcleo hipotalámico supraquiasmático, observaron inmunoreactividad al aminoácido inhibidor gamma-aminobutirato, glutamato decarboxilasa, vasopresina/neurofina, péptido liberador de gastrina/bombesina, somatostatina y

serotonina en los botones presinápticos axonales, con tinción inmunológica de peroxidasa antes de la inclusión. Estos botones presinápticos fueron observados haciendo contacto con estructuras postsinápticas. También todas estas sustancias pueden ser localizadas en el pericarion dentro del NSQ. De sus resultados concluyen que las sustancias neuroactivas mencionadas se encuentran en los axones que hacen sinápsis con neuronas del supraquiasmático, y que pueden estar funcionando como neurotransmisores en el citado núcleo. Así como que hay una fuerte posibilidad de que algunos axones presinápticos con inmunoreactividad a cualquiera de las sustancias mencionadas, pueden estar involucrados en circuitos locales de interacción entre neuronas del NSQ.

Moore, en 1983, en una extensa revisión, integra lo que podría ser la organización y función del NSQ. Así, nos dice que, los ritmos circádicos pueden estar relacionados en fase con estímulos sincronizantes secundarios, aún en presencia del ciclo normal luz-obscuridad, y estos, pueden ser mantenidos conservando la función circádica después de la extracción del NSQ. Los núcleos hipotalámicos ventromedial (NVM) y antero lateral (HAL), pueden estar conteniendo osciladores circádicos débiles, que no funcionen significativamente en el animal intacto en condiciones normales, pero que son capaces de mantener una oscilación circádica mínima ante condiciones ambientales poco usuales. En base a la información disponible, es posible pensar que el ritmo

de la actividad metabólica en el NSQ, se desarrolla prenatalmente sincronizándose inicialmente con la ritmicidad materna. Mientras esto sucede, el NSQ está formado por somas neuronales inmaduros, sin conexiones significativas. De los datos anteriores, el autor interpreta que, las neuronas del NSQ son producidas como un conjunto genéticamente determinado, formando osciladores circádicos independientes que se acoplan e interconectan durante el desarrollo, y son inicialmente sincronizados por la ritmicidad materna. Entonces, lo que primero es una función neuronal individual, se convierte luego en una propiedad de circuito, con osciladores neuronales acoplados formando el NSQ; diferenciándose más tarde en al menos dos redes neuronales dentro del núcleo: el grupo celular dorsomedial, y el grupo celular ventrolateral. Las neuronas del NSQ rostral pueden representar un grupo celular aparte, o un componente del grupo celular dorsomedial.

Finalmente, el autor propone que el NSQ funciona como un oscilador guía para osciladores secundarios y pasivos. Los núcleos hipotalámicos ventromedial y anterolateral son considerados como osciladores secundarios, adoptivos, interconectados con el NSQ. Es decir, en esta revisión, el NSQ es visto como conteniendo un sistema oscilador múltiple, mutuamente complementario, que se origina a partir del desarrollo de un proceso de interconexión neuronal individual de oscilación circádica, dentro de circuitos que formarán el sistema

oscilatorio.

Williams, et al., en 1983, trabajando con ratas hembras vírgenes, investigaron el rol que las aferentes serotoninérgicas del NSQ que entran a través del tracto medial corticohipotálamico (MCHT) y del tracto dorsal raquídeo (DRAT), procedentes de los núcleos del rafe dorsal y medial, podrían estar jugando en las variaciones circádicas de la producción de corticosterona. Para lo cual colocaron microinyecciones de 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-HT) y de vehículo - ringer y ácido ascórbico - cerca del polo posterior del NSQ, evitando así dañar axones ascendentes al telencéfalo de 5HT y/o terminales de 5HT vecinas al NSQ. Las muestras de sangre se sacaron durante 36 hs. para obtener dos juegos completos de datos por cada rata. Se midió la corticosterona en plasma de acuerdo al método de Murphy y después se midió la recaptura de 5-HT tritiada (3H-5HT) en muestras de NSQ y de la región hipotalámica ventromedial de acuerdo al método de Fuxe y Jonason. Los autores observaron que en los animales a los que se les inyectó vehículo, mostraron una variación circádica normal de los niveles de corticosterona en contraste con los que recibieron 5,7-DHT en los niveles de corticosterona fueron intermedios entre el pico control y valores bajos. Y aunque se presentaron fluctuaciones individuales, en conjunto, el grupo no presentó variaciones circádicas significantes.

La recaptura de 3H-5HT en el NSQ se redujo a 38% en relación

al grupo control inyectado con vehiculo solamente. Mientras que la recaptura de 5-HT en el núcleo ventromedial del hipotálamo, el decremento alcanzó solo un 82%. De estos resultados los autores concluyen que las terminales de 5-HT en el NSQ pueden jugar un importante rol en la sincronización de las variaciones circádicas de la secreción de corticosterona.

Kafka et al., en 1983, publican en una pequeña revisión, que el cerebro de la rata muestra una ritmicidad diaria en el número de receptores muscarínicos, colinérgicos, dopaminérgicos, opiáceos, benzodiazepínicos, así como en los alfa y beta adrenérgicos. La ritmicidad es circádica, con periodos de veinticuatro horas generados endógenamente. La característica de la ritmicidad circádica cambia con los años. Si se extirpa el NSQ, se abole la ritmicidad circádica. Una respuesta biológica a la ritmicidad circádica en el número de receptores alfa y beta adrenérgicos, en la corteza cerebral, es la ritmicidad circádica de la norepinefrina que estimula la producción de AMP-cíclico. Con respecto a la ritmicidad circádica de los neurotransmisores en los receptores, se reportaron estudios realizados en humanos sometidos a tratamiento con antidepresivos. La administración crónica de imipramina, un antidepresivo tricíclico, y de clorgylina, un inhibidor de la alfa-monoamino oxidasa, ocasiona en el caso de la imipramina un retardo del punto máximo de cuatro receptores: dopaminérgicos, alfa adrenérgicos y

benzodiazepínicos del cerebro anterior y el colinérgico del cuerpo estriado. Cabe agregar, que el punto máximo de los receptores colinérgicos pueda ser adelantado. La segunda droga, clorgylina, retarda el punto máximo de los receptores benzodiazepínicos y alfa-adrenérgicos del cerebro anterior. También, abole la ritmicidad de los receptores dopaminérgicos en el cuerpo estriado.

Por otra parte la administración crónica de carbonato de litio, abole la ritmicidad en todos los receptores mencionados al principio y, la privación de sueño a las ratas por veinticuatro horas causa solo pequeños cambios en la ritmicidad de los siete receptores mencionados. También, reportan el resultado de estudios efectuados, luego de la administración crónica de un antipsicótico utilizado en la terapia medicamentosa de enfermedades afectivas, el fluphenazine. Esta sustancia, aumenta el número de receptores alfa y beta adrenérgicos, colinérgicos y opiáceos.

Se ha planteado una hipótesis que postula que la depresión en humanos, es una alteración de la sincronización rítmica, con algunos ritmos biológicos que se encuentran con adelanto de fase, con respecto al ciclo sueño-vigilia, si esta hipótesis es correcta, y si, como es probable, la ritmicidad circádica de los neurotransmisores cerebrales es común a humanos y ratas, el retraso en el punto máximo de algunos receptores después de administración crónica de imipramina, clorgylina y litio, puede

jugar un rol en la acción antidepressiva de estas drogas. Así, es probable que la ritmicidad circádica de los receptores evoque respuestas circádicas intracelulares que pueden modular la neurotransmisión cerebral, coordinar procesos fisiológicos internos, y sincronizarse luego a eventos del medio ambiente.

Schwartz y Giner, ya en 1987, trabajando en ratas, utilizaron la 2-deoxiglucosa marcada con C14 como indicador de la actividad metabólica. Observaron que el NSQ incrementa el consumo de glucosa durante el día, así como ante la estimulación con destellos luminosos. Con lo anterior los autores encuentran evidencias de una ritmicidad endógena del consumo de glucosa por el NSQ, la cual es función, tanto de la hora del día, como de las condiciones en que se encuentra la luz del medio ambiente.

Gross et al., en 1983, en una revisión bibliográfica presentada en el encuentro anual de la sociedad fisiológica americana, proponen entre otras ideas que: 1) la actividad eléctrica del NSQ, exhibe una ritmicidad circádica intrínseca que se refleja en el consumo de glucosa y en el metabolismo de la serotonina (5-HT), y que estas ritmicidades son acopladas al ciclo luz-obscuridad por la proyección retino hipotalámica (RHP). Esta proyección retinohipotalámica, es posiblemente junto con una proyección visual que llega desde la parte ventral del núcleo geniculado lateral, la encargada de inervar las neuronas del NSQ que responden a la luz y exhiben la función de detectores luminosos. 2) en el NSQ encontramos diferentes péptidos, tales

como: vasopresina, péptido intestinal vasoactivo (VIP), así como acetilcolina y serotonina. Cada una de éstas sustancias pueden encontrarse en circuitos intrínsecos o en terminales de proyecciones aferentes. 3) en condiciones naturales el NSQ es primariamente sensible a los grandes cambios luminosos ambientales que ocurren entre el día y la noche, y poco afectado por las diferentes intensidades de la luz lunar. 4) para que se inicie el funcionamiento de los ritmos circádicos en los mamíferos, se ha visto que es necesaria la integridad del haz retino hipotalámico, mientras que lesiones de partes más centrales en el sistema visual no perjudican al entrenamiento. Lo anterior no implica que el RHP sea la única vía que está mediando los efectos de la luz sobre los sistema circádicos. 4) el núcleo geniculado ventrolateral, núcleo terminal para algunas fibras retinianas, proyecta al NSQ fibras que contienen polipéptido pancreático de ave (APP). 5) los autores clasifican a las células del NSQ que responden a la estimulación visual de la retina como: luz-activadas o luz suprimidas, según incrementan o disminuyen su frecuencia de descarga. Y por último, 6) en el núcleo geniculado ventrolateral una considerable similitud celular posee las mismas propiedades que las neuronas del NSQ consideradas detectoras luminosas y al menos una porción de estas células terminan en el NSQ. La estimulación eléctrica de sus terminales en la rata resulta en activación antidrómica de los cuerpos celulares que se encuentran en el núcleo geniculado

ventrolateral. De lo anterior, los autores concluyen: 1) que estas vias son probablemente las responsables de la inervación de las células del NSQ que responden a la luz, las cuales exhiben la propiedad funcional de detectores luminosos. 2) que tal como ha sido bien demostrado, la acetilcolina en el NSQ media los procesos de fotoentrenamiento y supresión de luz que actúan en la actividad sintética de la glándula pineal. 3) con respecto a la serotonina y a la vasopresina, queda claro que al NSQ no depende de su presencia para generar ritmicidad circádica, ni entrenamientos de ritmos. 4) y finalmente que estas dos últimas sustancias podrían estar jugando un papel como moduladoras en la frecuencia del marcapaso intrínseco.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE ESTUDIO.

I. POSIBLE ACCION MODULADORA DEL LC SOBRE EL CICLO ESTRAL DE LA RATA.

En trabajos anteriores en nuestro laboratorio (Solano-Flores et al., 1982) se demostró que lesiones del area del LC suprimen transitoriamente la ritmicidad en el ciclo estral de la rata, este efecto se caracteriza por un diestro de la citología vaginal que se establece al efectuar la lesión y que perdura tanto más tiempo cuanto más LC ha sido interesado en la lesión.

El hecho de que la oscilación estral se haya establecido después del periodo de supresión ocasionado por la lesión sugeriria que la actividad del LC pudiera no ser esencial para la manifestación de la ciclicidad estral, sin embargo, es posible que la destrucción de grandes areas del LC, necesarias para demostrar un efecto más pronunciado, destruyera tambien subtrato anatómico del LC que es necesario para mantener vivo al animal (Solano-Flores et al., 1987), pues se ha demostrado (Snyder y Reis, 1975) que cuando se lesiona una gran cantidad del LC los animales mueren. Por otro lado, las neuronas del LC que no fueron dañadas, después de un periodo de recuperación, pudieran ser las responsables del restablecimiento de la ciclicidad.

Tambien un proceso de sensibilización postdominancia androgénica estar llevandose a cabo (Bache y Donoso, 1974).

Además, Solano-Flores et al., en 1987, postulan que es

probable que los efectos de la lesión del LC sobre la ciclicidad estral no se deban a la pérdida de entradas noradrenérgicas de una sola estructura relacionada con la conducta sexual, sino, mas bien a la pérdida de entradas noradrenérgicas de los diversos sistemas neurales relacionados con la actividad sexual e inervados por el LC. Por ejemplo, es sabido que neuronas del LC distribuyen sus terminales axonales profusamente en el hipocampo y la amígdala (Loizou, 1989; Pickel et al., 1974; Ungertedt, 1971; Watts y Swanson, 1986, 1987) y que el hipocampo ejerce una influencia inhibitoria en la liberación de gonadotropinas (Velasco y Taleisnik, 1969 a) mientras que la estimulación de la amígdala es efectiva en inducir ovulación.

Así, el hecho de que la lesión del LC haya afectado una actividad ciclica sugirió que posiblemente el LC participa en la modulación de aquellas estructuras cerebrales que controlan los ritmos cíclicos.

II. LA INTEGRIDAD DEL NSQ Y SU ACCION MODULADORA SOBRE EL CICLO ESTRAL.

Ya hemos mencionado que el NSQ del *hipotálamo* lleva a cabo funciones de regulación de actividades ciclicas (Brown-Grant et al., 1977; Easman et al., 1984; Raizman et al., 1977); y que actua como un marcapaso circádico autónomo (Inouye et al., 1979; Schwartz et al., 1977) de, por ejemplo, algunas ritmicidades conductuales (Stephan et al., 1972) y hormonales (Moore et al., 1972), las cuales son eliminadas después de dañar al NSQ.

Parece ser que estos ritmos dependen de la información luminosa que impacta en el núcleo ya que dichos ritmos no se ven afectados al ser seccionados los tractos ópticos (Moore y Eichler, 1972; Stephan y Zucker, 1972 b). Evidencias histológicas (Moore y Lenn, 1972) y electrofisiológicas (Nishino et al., 1976) apoyan la existencia de una proyección directa desde retina hacia los elementos neurales del NSQ. Esta proyección retinohipotalámica parece ser específica para el NSQ ya que no existen evidencias histológicas que indiquen la existencia de proyecciones retinohipotalámicas a otros núcleos del hipotálamo (Moore, 1973). Las proyecciones visuales centrales parecen no ser esenciales para las funciones que dependen del ciclo luz-obscuridad, ya que la destrucción de los tractos ópticos (Stephan y Zucker, 1977 b) o de los núcleos visuales centrales (Dark y Asdourian, 1975) no interfiere con los ritmos conductuales ni con las respuestas esperadas normalmente ante las señales luminosas. Los trabajos anteriores apoyan la idea de que la vía retinohipotalámica y el núcleo supraquiasmático transmiten y procesan la información luminosa hacia aquellas estructuras cerebrales que regulan las respuestas conductuales y neuroendocrinas ocasionadas por las señales

luminosas (Moore y Lenn, 1972).

III.- HIPOTESIS DE TRABAJO.

Por otro lado se sabe que animales sometidos a luz constante

(Schwarz, 1992), o bien aquellos a los que se les ha destruido el NSQ (Brown-Grant y Raisman, 1976) presentan una alteración de los diferentes ciclos biológicos; entre estas alteraciones se observa la aparición de estro persistente (EP).

También, existen evidencias, de que el EP inducido tanto por luz brillante constante como por daño del NSQ es suspendido transitoriamente por la lesión electrolítica del LC (Solano-Flores et al., 1987).

Entonces el hecho de que la actividad ciclica sea alterada por la lesión del LC y el hecho de que respuestas específicas (i.e. EP) dependientes del estado de funcionalidad del NSQ sean alteradas por el daño al LC sugieren una posible interacción funcional del área del LC y el área del NSQ.

Si esta interacción funcional existiera, entonces, al estimular alguno de éstos núcleos, se podría registrar en el otro un potencial provocado y viceversa; así como, por la estimulación del área del LC, alterar la actividad unitaria espontánea de neuronas del NSQ.

Con el propósito de determinar la existencia de una ~~propiedad~~ *propiedad* funcional entre el área del NSQ y el área del LC, como procedió a implantar electrodos en ambos núcleos, para registrar actividad provocada en uno de ellos por la estimulación del otro; además se implantó una micropipeta en el NSQ, para registrar los probables efectos de la estimulación eléctrica del LC sobre la actividad unitaria espontánea del NSQ.

CAPITULO III METODOS

En el presente estudio se utilizaron dos métodos electrofisiológicos.

Por un lado, la técnica de potenciales provocados, con el objeto de determinar si dos agrupaciones celulares - el Locus Coeruleus (LC) y el núcleo supraquiasmático (NSQ) - están conectadas funcionalmente (Chang 1959), y obtener información de la actividad eléctrica global desencadenada en la estructura registrada debido a la estimulación de otra.

Por otro lado, el registro de actividad unitaria, y en ocasiones multiunitaria, para obtener información de la respuesta de una única neurona, entre una población heterogénea, pudiendo valorar así, si la estimulación eléctrica del LC influye sobre una unidad registrada en NSQ.

I.- REGISTRO DE POTENCIALES PROVOCADOS.

Con el objeto de determinar si existe una conexión funcional entre el NSQ y el LC, se utilizó la técnica de potenciales provocados (Chang, 1959). Se obtuvo así información sobre la actividad global desencadenada en cada una de ellas debido a la

estimulación que se hizo en la otra. Se efectuaron registros bipolares para así captar la actividad exclusiva de la región registrada (Rudomin et al., 1965).

a) ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

Los experimentos fueron llevados a cabo en ratas hembras Wistar intactas con un peso que osciló entre 250 y 350 g.

b) ANESTESIA.

Los animales trabajados fueron anestesiados por vía intraperitoneal con Hidrato de Cloral a una dosis de 400 mg. por kilogramo de peso. Con el propósito de observar si posibles artificios musculares contaminaban el registro, a tres de los animales una vez anestesiados se les aplicó Flaxedil a una dosis de 10 mg. por kilogramos de peso, el que se administró a la dosis suficiente para lograr paro respiratorio. La respiración se mantuvo artificialmente con un respirador marca EM modelo V100KG. Los puntos de contacto con el aparato estereotaxico fueron anestesiados localmente con Xilocaina en pasta.

c) PROCEDIMIENTOS QUIRURGICOS.

Se rasuró el pelo de la cabeza del animal. Esta fue colocada en un aparato estereotaxico marca David Kopf Instruments. Se efectuó un corte longitudinal en la línea media

de la piel que cubre el craneo en una dirección anteroposterior. La incisión abarcó aproximadamente 12 mm en un plano sagital. Se separaron los bordes de la herida dejando así el craneo al descubierto. Se determinaron las regiones donde se efectuarían las perforaciones para permitir el paso de los electrodos. La duramadre subyacente fue cuidadosamente retirada con la punta de una aguja hipodérmica. El tejido cerebral expuesto fue cubierto con algodón embebido en solución salina isotónica para evitar su deshidratación.

d) MANTENIMIENTO DE LA PREPARACION.

A lo largo del experimento, se mantuvo la temperatura con un termistor, entre 35 y 37 °C. Se verificó la misma con un termómetro rectal de mercurio cada media hora. Se verificó la frecuencia cardiaca cuantificándosela constantemente mediante una bocina conectada a un sistema de electrocardiograma.

Se mantuvo anestesiado al animal administrando pequeñas dosis de Hidrato de Cloral - aproximadamente 0.1 ml. al 10% - cada dos horas.

e) ELECTRODOS.

Se usaron electrodos bipolares concéntricos de acero inoxidable, tanto para registro como para estimulación de las estructuras. El electrodo externo y superior estaba formado

por un tubo de acero inoxidable aislado; el electrodo interno e inferior era un alambre de Nichrome aislado. En ambos se pulió la punta que recogería la actividad bioeléctrica. El diámetro externo del electrodo fue de 560 μm . La separación entre las dos puntas fue de 500 μm . La resistencia eléctrica opuesta al paso de la corriente directa medida en solución salina fue de aproximadamente 20 Kohm.

f) ESTEREOTAXIA.

Las puntas de los electrodos de estimulación y registro se colocaron estereotáxicamente en su posición según las coordenadas obtenidas del atlas estereotáxico del cerebro de rata de Pellegrino y Pellegrino, 1979. Las coordenadas utilizadas para alcanzar el LC fueron: anterior, anatómico - borde posterior de la confluencia del seno longitudinal superior con los senos transversos -; lateral, 0.8 mm. a la izquierda de la línea media; y profundidad, -5.5 mm. Las coordenadas utilizadas para alcanzar el NSQ fueron: anterior, 100 μm . posteriores a bregma; lateral, 0.8 mm a la izquierda de la línea media; y profundidad -8.1 a -8.3 mm.

g) VERIFICACION ELECTROFISIOLOGICA DEL SITIO DE ESTIMULACION.

Con el objeto de saber si la punta del electrodo de estimulación alcanzó al LC se estimuló eléctricamente durante

0.5 a 3.0 segundos con pulsos cuadrados de 0.2 mseg de duración y 400 a 800 microamperes de intensidad a frecuencias de 15 y 30 Hertz. Este patrón de estimulación con una de las puntas bien colocada, ocasionó generalmente durante el periodo de estimulación, bradicardia y aumento de la frecuencia respiratoria con disminución de la amplitud del movimiento respiratorio, seguida de una inspiración profunda (Ward y Gunn, 1976). Con la punta del electrodo colocada en un radio de un milimetro con respecto al sitio de estimulación (LC), no se observó lo anterior, ni aún duplicando la intensidad de corriente de estimulación.

h) ESTIMULACION Y REGISTRO

Pulsos cuadrados únicos de 0.2 a 0.3 mseg. de duración y de 2.0 a 3.0 mamp. de intensidad, se aplicaron al LC y al NSQ, mediante un estimulador marca Grass modelo S88 a travez de la unidad de aislamiento marca Grass modelo PSIU6. El potencial provocado registrado bipolarmente en ambos núcleos fue amplificado en un preamplificador marca Grass modelo PS11. El potencial se registró en un osciloscopio de rayos catódicos marca Tektronix 5103N, desde donde fueron fotografiados con una cámara fotográfica marca Grass Kymograph, además fueron grabados en cinta magnética con una grabadora marca Ampex y almacenados en diskettes para su análisis con una computadora Apple.

i) VERIFICACION HISTOLOGICA DE LOS SITIOS DE REGISTRO Y ESTIMULACION.

Al finalizar el experimento se anestesió profundamente a la rata. Los sitios de estimulación y registro fueron destruidos electrolíticamente pasando por las puntas de los electrodos durante 10 segundos una corriente directa de 1 mamp. 5 seg en cada polaridad.

El cerebro del animal fue perfundido con 150 ml de solución salina isotónica inyectada a través del ventrículo izquierdo en el origen de la aorta. Inmediatamente después se fijó el cerebro con 150 ml de formol al 10 % saturada con ferrocianuro de potasio 3 M, inyectados en la misma forma. Con un Kryostat 1720 Leitz Auda, se obtuvieron cortes de cerebro de 100 μ m de espesor. Los cortes histológicos fueron montados en laminillas de vidrio con gelatina y teñidos con rojo neutro o fueron fotografiados directamente (Guzmán y colaboradores, 1958). Los sitios de estimulación y registro fueron verificados en las laminillas al distinguirse una mancha azul, producto de la reacción del ferrocianuro de potasio con el hierro depositado por el electrodo. El encogimiento del tejido fijado se consideró al verificar los sitios de registro.

j) MANIOBRAS REALIZADAS AL POTENCIAL.

Con el objeto de caracterizar las propiedades de la respuesta eléctrica provocada en el NSQ por la estimulación eléctrica del LC, se efectuaron diversas maniobras descritas en estudios previos, realizados mediante esta técnica (Chang, 1959; Pattow y Amassian, 1954; Malliani y colaboradores, 1965; Rudomin y colaboradores, 1965).

Para determinar la altura en la que en el NSQ es posible registrar la mayor amplitud del potencial provocado por la estimulación del LC, o una posible inversión de los componentes, se efectuaron registros conforme se movió dorsoventralmente la punta del electrodo de registro, mientras el electrodo de estimulación en el LC permanecía fijo. Efectuando así exploración topográfica vertical de la zona de 10 en 10 μm o de 100 en 100 μm respectivamente, hasta llegar al quiasma óptico.

Con el propósito de determinar si la actividad eléctrica registrada en el NSQ fue provocada transinápticamente en los elementos neurales del NSQ, se registró el potencial cuando se estimuló el LC con diversas intensidades de corriente, además se observó la respuesta provocada cuando se estimuló con diversas frecuencias, también se observó la respuesta provocada en NSQ por un estímulo de prueba al LC, después de haberse aplicado un estímulo condicionante, separados ambos estímulos por diversos

lapsos. A cinco animales se les aplicó Flaxedil, siguiéndose el desarrollo temporal del potencial a lo largo del periodo de atonia muscular que incluyó paro respiratorio, del cual se sacó al animal previamente entubado, conectándolo a un respirador artificial modelo V100KG. Y por último después de registrar el potencial provocado, se destruyó electrolíticamente el sitio de registro y se reanudó el registro de la actividad de la misma región bajo la estimulación del LC. Para determinar la especificidad del sitio de estimulación, se colocó el electrodo de estimulación en diversas posiciones alrededor del núcleo a estimular, registrando la actividad eléctrica en el otro.

Con excepción de la utilización de Flaxedil, los procedimientos descritos se aplicaron al potencial registrado en el LC.

II.-REGISTRO DE ACTIVIDAD UNITARIA.

Con el objeto de obtener información sobre la actividad de una sola neurona entre la heterogénea población existente en NSQ se utilizó esta técnica. Se pudo valorar de esta manera si la estimulación del LC, influye en la actividad de la neurona registrada.

a) ANIMAL.

Para los experimentos de registro de actividad unitaria se

utilizaron 34 ratas hembras Wistar intactas, con un peso entre 250 y 300 gramos.

b) ANESTESIA.

Las ratas fueron anestesiadas con Hidrato de Cloral, a una dosis de 400 mg por kg de peso. A lo largo del experimento, dosis de refuerzo del anestésico utilizado se aplicaron en caso necesario. Pasta de xilocaina se aplicó en los puntos de contacto de la cabeza del animal con el estereotáxico.

c) PROCEDIMIENTOS QUIRURGICOS.

Luego de rasurar el pelo de la parte superior de la cabeza, y de colocar la cabeza de la rata en un aparato estereotáxico marca David Kopf Instruments, se efectuó una incisión en la piel que cubre el cráneo en dirección antero-posterior y a lo largo de la línea media. La incisión se inició cinco centímetros antes de Bregma, extendiéndose hasta cinco centímetros detrás de Lambda. Se separaron los bordes de la herida dejándose el cráneo al descubierto. Se raspó el periostio con una legra y con una fresa montada en un motor manual se efectuaron dos orificios en el cráneo de aproximadamente 3 milímetros, uno de ellos teniendo a Bregma como centro y otro cuyo borde anterior comenzaba nueve milímetros detrás de Bregma y dejaba al descubierto el seno confluyente, resultado de la unión del seno longitudinal superior

y del seno recto. Con la punta de una aguja hipodérmica se retiró la duramadre subyacente bajo control microscópico. Para evitar la deshidratación del tejido cerebral expuesto, se cubrió éste con aceite mineral.

d) MANTENIMIENTO DE LA PREPARACION.

A lo largo del experimento se mantuvo la preparación a una temperatura de 37 a 38 grados centígrados mediante un cojín eléctrico de corriente directa. El sistema de calentamiento del animal fue controlado automáticamente usándose como señal de retroalimentación la temperatura rectal de la rata detectada por un termistor. Un termómetro de mercurio instalado en el recto permitió verificar la temperatura regularmente. Los experimentos tuvieron una duración aproximada de seis a siete horas.

e) ELECTRODOS DE ESTIMULACION Y REGISTRO.

Para estimular eléctricamente la región del LC se utilizaron electrodos bipolares concéntricos. El electrodo externo y superior estaba formado por un tubo de acero inoxidable aislado, el electrodo interno e inferior, era de un alambre de Nichrome aislado, en ambos se pulieron las puntas quitándoles el barniz. El ancho total de electrodo fue de 600 micrómetros la punta superior estaba separada 100 micrómetros de la inferior.

La resistencia opuesta por el electrodo al paso de corriente directa medida en solución salina fue de 60 K ohm.

Para registrar la actividad de neuronas localizadas en el NSQ se usaron micropipetas de vidrio llenas de un solución de cloruro de sodio 2 M saturada en el colorante "fast green" (Thomas y Wilson, 1965). Las micropipetas tenían una fibra de vidrio en su interior para facilitar su llenado en el momento de ser usadas (Tasaki et al., 1968). Las puntas de las pipetas fueron cortadas bajo microscopio de forma de dejar su punta de un tamaño entre 3 y 10 micrómetros. La resistencia opuesta al paso de la corriente directa, medida en solución salina fue de 3 a 8 megachms.

g) ESTEREOAXIA.

Las intersecciones de la sutura osea media longitudinal, con las suturas anterior fronto-parietal y la posterior parieto-occipital, fueron colocadas en un mismo plano horizontal. Las coordenadas utilizadas para colocar la punta del electrodo de estimulación en el LC fueron: P= 8.3 a 9.4 milímetros a partir de bregma; L= 0.8 a 1.1 milímetros; y H= -5.5 a 6.0 milímetros desde la superficie del cerebro. La punta del microelectrodo de registro fue dirigida a la región del NSQ con un micromanipulador con pasos de 1 micrómetro; las coordenadas usadas fueron: A= 50 a 100 micrómetros detrás de bregma, L= 0.5 a 0.1 milímetro, y H= -

8.1 a -8.3 milímetros a partir de la superficie del cerebro.

h) VERIFICACION ELECTROFISIOLOGICA DEL ELECTRODO DEL LC.

Con el objeto de verificar si la punta del electrodo localizado en LC se encontraba realmente en el citado núcleo se procedió a estimular la zona durante 0.5 a 3.0 segundos con trenes de 15 a 30 Hertz, formados por pulsos cuadrados de 0.2 milisegundos de duración y 0.5 a 1.0 miliamperios de intensidad. Durante la estimulación de la zona del LC se observó un aumento de la frecuencia respiratoria acompañado por una disminución de la amplitud del movimiento respiratorio (Ward y Gunn, 1976). Al suspender el estímulo, frecuentemente se observó un movimiento inspiratorio profundo. El ritmo respiratorio normal se recuperó inmediatamente.

i) ESTIMULACION Y REGISTRO.

Trenes de 15 y 30 Hz, de 0.5 a 2.0 segundos de duración, con una intensidad de 0.1 a 0.8 miliamperios, se aplicaron al LC, con un estimulador marca Grass S88 a través de una unidad de aislamiento marca Grass PSI06. Las señales bioeléctricas captadas por el microelectrodo de registro en el NSQ fueron llevadas a un preamplificador de alta impedancia de entrada, marca Grass P16 y luego al P511. En ocasiones se hizo pasar la señal por un sistema de capacitores con el fin de cancelar la

interferencia producida por la red eléctrica del laboratorio. Las señales se proyectaron en la pantalla de memoria de un osciloscopio de rayos catódicos marca Tektronix 5103N. En todos los experimentos se tomaron fotografías con una cámara quimográfica marca Grass. Las señales también fueron grabadas en cinta magnética en una grabadora marca Ampex PR-500 para su posterior análisis. En otro canal de la grabadora se dió un pulso cuadrado de 5 voltios, que serviría de señal de disparo al conversor analógico-digital de una computadora Appel, para la representación de histogramas durante el análisis de datos. En un tercer canal se grabó la narración hablada de los eventos ocurridos a lo largo del experimento.

Se fotoestimuló con un fotoestimulador marca Grass con destellos luminosos y trenes de 15, 20 y 30 Hz durante 0.5 a 2.0 segundos.

j) VERIFICACION HISTOLOGICA DE LOS SITIOS DE REGISTRO Y ESTIMULACION.

Al finalizar el experimento se le inyectó al animal una dosis letal de anestésico. El sitio de estimulación fue marcado electrolíticamente con corriente directa de 1 miliamperio durante 10 segundos, cinco en cada polaridad. El sitio registrado por la punta de la micropipeta fue marcado al depositarse el colorante "fast green" por el paso de corriente directa negativa de 40 microamperios durante 10 minutos a través del

microelectrodo. Ocasionalmente se dejó la pipeta en el cerebro luego de haber cortado la cabeza del animal, para facilitar la localización del último trayecto. La rata fue perfundida por vía intracardiaca con solución salina isotónica inicialmente y con posterior aplicación de formol al 10% saturado con ferrocianuro de potasio 3N. El cerebro fue extraído y cortado en un Kryostat 1720 Leitz Auda, se obtuvieron secciones de 50 y 100 micrómetros de espesor de las regiones en las cuales estuvieron los electrodos. Los cortes histológicos se montaron en laminillas de vidrio y se tificaron con rojo neutro o violeta de Cresilo. Los sitios de estimulación y registro fueron identificados bajo microscopio. La identificación de las estructuras en las que quedaron incluidos los electrodos se efectuaron con ayuda del atlas estereotaxico del cerebro de rata de Pellegrino y Pellegrino, (1979).

k) ANALISIS DE LOS DATOS.

Las señales almacenadas en cintas magnéticas, se hicieron pasar a través de un analizador de amplitudes a fin de eliminar el ruido de fondo y realizar solamente el análisis de las espigas correspondientes a la actividad unitaria. La señal resultante se capturó en una microcomputadora Appel, por medio de un convertidor analógico-digital; el análisis se basó en el tiempo de aparición de cada espiga, y fueron almacenadas las señales en

discos flexibles. Se construyeron histogramas periestimulos a trenes de estimulación de 15 y 30 Hz, así como a estimulación con pulso único. Un histograma periestimulo muestra la distribución de las espigas a lo largo del tiempo, respecto y alrededor del o los segundos en los que se presenta la estimulación. Un pico en un histograma periestimulo representa un momento de preferencia de descarga relativo al instante del estímulo (Gerstein y Kiang, 1960) Así, el histograma periestimulo es un estimador de probable causa-efecto en el registro de actividad unitaria asociada a un estímulo. La duración del intervalo unidad de lectura de datos, fue de 500 a 1000 milisegundos. La duración total de los barridos fue de 20 a 40 segundos, con un promedio de 32 segundos. Se efectuaron sumas de hasta 3 barridos para un mismo patron de estimulación. Los histogramas obtenidos fueron graficados, y algunos de ellos fotografiados. En algunos registros en que la relación señal ruido no era suficientemente grande, la valoración del efecto de la estimulación sobre la actividad unitaria o multiunitaria se realizó observando el registro en el osciloscopio, desde donde además fue fotografiado.

CAPITULO IV RESULTADOS

I. POTENCIALES PROVOCADOS

POTENCIAL PROVOCADO EN EL NUCLEO SUPRAQUIASMATICO IZQUIERDO POR ESTIMULACION DEL LOCUS COERULEUS IZQUIERDO.

Al estimular en LC de acuerdo a la técnica descrita, se registro en NSQ a una altura (h) de -8.3 mm, un potencial bifásico con una primera deflexión negativa (N), que presentó una latencia al pico de 19 milisegundos ; seguida de una deflexión positiva (P), que presentó una latencia al pico de 40 milisegundos .

El potencial no cambia su polaridad al cambiar la polaridad de estimulación del LC.

a) VARIACION EN LA AMPLITUD DEL POTENCIAL A MEDIDA QUE NOS ACERCAMOS A TRAVES DE AREA PREEPTICA AL NSQ HOMOLOGO.

En diecinueve animales se efectuó una exploración topográfica en sentido vertical , a través del area preeptica hipotalámica sobre el NSQ y dentro del mismo NSQ hasta atravesarlo y alcanzar el quiasma óptico registrando con un electrodo bipolar en las zonas mencionadas las diferencias de potencial dadas por la estimulación del LC con pulsos cuadrados únicos de 0.2 msec de duración y de 2.0 a 3.0 mA de intensidad.

Bajando, en cinco de los animales de diez en diez micrómetros, en tres animales de cientocincuenta en cientocincuenta, y en los once animales restantes de cien en cien micrómetros.

Conforme el electrodo de registro se movió hacia abajo, a partir de una altura de -7.0 mm en región preóptica medial (POA), aproximándose verticalmente a la región del NSQ, ventralmente situada con respecto a POA, se observó, un aumento en la amplitud de cada uno de los componentes del potencial.

Así mismo a una altura de entre -8.0 y -8.1, zona que podría considerarse como correspondiente al borde superior del NSQ, se observó una inversión de polaridad y una pequeña disminución en su latencia en el segundo componente del potencial (fig.1), el que recuperó su polaridad positiva al llegar la punta al quiasma óptico.

En la misma figura 1 se observa que conforme la punta del electrodo de registro se aproxima a la zona correspondiente al NSQ, aumenta la amplitud del potencial. El trazo superior se obtiene 800 micrómetros por encima del NSQ y apenas se comienzan a esbozar los distintos componentes. El siguiente trazo fue obtenido cuando la punta del electrodo se encontraba 300 micrómetros por encima del NSQ. Se observa un primer componente negativo con 19 milisegundos de latencia al pico y un segundo componente positivo con 40 milisegundos de latencia al pico.

El tercer trazo fue obtenido cuando la punta del electrodo se encontraba aproximadamente en el centro del NSQ y en esta posición se observa la desaparición del primer componente, así como la inversión del segundo componente que se torna negativo conservando aproximadamente la misma latencia.

El cuarto trazo corresponde al obtenido cuando la punta inferior del electrodo se encuentra sobre el quiasma óptico aproximadamente 200 micrometros por debajo del NSQ. Aquí se observa la reaparición del primer componente que conserva los mismos 19 milisegundos de duración y una nueva inversión del segundo componente que se hace positivo de nuevo y conserva los 40 milisegundos de latencia al pico. En el esquema que representa un corte histológico de la región del NSQ, los puntos negros muestran el lugar donde se colocó la punta inferior del electrodo de registro.

b) EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN REPETITIVA.

La aplicación de pares de estímulos, ocasionó que el potencial provocado por el pulso de prueba tuviera menor amplitud que el potencial provocado por el pulso condicionante. Esto ocurrió, como se muestra en la fig. 2 tanto, cuando la separación entre los estímulos fue de 80 milisegundos como en el primer trazo, donde se observa apenas la terminación del primer potencial y el segundo potencial provocado presenta una disminución correspondiente a la cuarta parte de su amplitud.

Así como, cuando la separación entre el par de estímulos es mayor a los 340 milisegundos, como se observa en el tercer trazo, en el que la disminución de la amplitud continúa siendo de una cuarta parte en el segundo potencial.

En el segundo trazo de la figura, el lapso entre el estímulo condicionante y el de prueba es de 110 milisegundos, y se conserva la disminución de la amplitud del segundo potencial. En este último trazo se observa una tercer componente negativo que en el primer potencial tiene una latencia al pico de 90 mseg., y en el segundo potencial disminuye su latencia a 70 mseg.

c) ESPECIFICIDAD DE LA ZONA DE REGISTRO.

La fig. 3, muestra en el primer trazo el potencial obtenido en NSQ por estimulación del LC. En el siguiente trazo vemos el registro de la misma zona, después de la destrucción electrolítica del área del NSQ.

d) ESPECIFICIDAD DE LA ZONA DE ESTIMULACION.

La fig.4 corresponde a los registros obtenidos cuando se modifica la localización del electrodo de estimulación.

Los tres trazos centrales superpuestos corresponden al lateral 0.8 normalmente utilizado de acuerdo al atlas de Pellegrino y Pellegrino para la localización del LC; y de arriba hacia abajo la altura a la que se encontraba el electrodo fue: en el LC, 1 mm y 2 mm por debajo respectivamente. El primero nos muestra el potencial provocado descrito, con sus características de latencia y amplitud. En los dos trazos inferiores se observa

como se va perdiendo la forma del mismo, y se nota la reducción de las latencias y pérdida de amplitud de sus componentes.

El trazo que en la figura aparece a la izquierda, nos muestra el registro obtenido en el NSQ cuando el electrodo de estimulación se encuentra 1 mm por debajo del LC, y 1.5 mm lateral al mismo. El registro no corresponde al potencial registrado cuando el electrodo de estimulación se encuentra en el LC.

El trazo inferior derecho, corresponde al obtenido cuando el electrodo de estimulación se encontraba sobre la línea media y 2 mm por debajo del LC. Nuevamente, se ha perdido la forma del potencial registrado en NSQ.

II.- POTENCIAL PROVOCADO EN EL LOCUS COERULEUS IZQUIERDO POR ESTIMULACION DEL NUCLEO SUPRAGUIASMATICO IZQUIERDO.

Al estimular el NSQ izquierdo, de acuerdo a la técnica descrita, se registró en el LC izquierdo un potencial provocado con un componente temprano con una latencia de 9 milisegundos al pico, y un componente tardío con una primera onda positiva (P) de 20 milisegundos de latencia al pico, seguida de una onda negativa (N) de 50 milisegundos de latencia al pico.

El potencial no cambia su polaridad al cambiar la polaridad de estimulación en el NSQ. (fig. 5).

a) ESPECIFICIDAD DEL SITIO DE ESTIMULACION Y PROYECCION.

La fig. 5 nos muestra una exploración topográfica del sitio

de estimulación en sentido vertical, combinando un cambio de polaridad y voltaje -entre 3 y 5 mv- del electrodo de estimulación localizado en el area del NSQ.

Los cuatro trazos de la izquierda fueron tomados en polaridad inversa de la unidad de aislamiento conectada al estimulador. Los cuatro trazos centrales, en polaridad normal de la mencionada unidad. La intensidad en ambas columnas de potenciales fue de 3 miliamperios.

Por ultimo la columna de la derecha corresponde a potenciales registrados en polaridad normal con 5 miliamperios de intensidad.

Las diferentes alturas a que corresponde la exploración topografica con el electrodo estimulador son, de arriba hacia abajo las siguientes: 800 micrómetros por encima del NSQ izquierdo, 100 micrómetros arriba del polo superior del NSQ izquierdo, el quiasma óptico y en los trazos inferiores el NSQ izquierdo.

La punta del electrodo estimulador se considera negativa cuando se utiliza la polaridad inversa de la unidad de aislamiento.

En la polaridad inversa de la unidad de aislamiento, es decir con la punta negativa, se observa aún a 800 micrómetros por encima del NSQ el esbozo del componente postsináptico del potencial. Lo mismo ocurre cuando el electrodo de estimulación se encuentra 800 micrómetros por encima del NSQ.

Al llegar la punta al polo superior del NSQ, observamos la aparición del componente presináptico y de los dos componentes postsinápticos.

En el tercer trazo de la columna de la izquierda, la dos puntas del electrodo se encuentran abrazando al NSQ, observándose los componentes pre y postsinápticos.

En el último trazo, el electrodo de estimulación fue regresado a una posición anterior donde la punta se encontraba en el polo superior del NSQ. Para tomar las fotografías se utilizaron en todos los trazos, la superposición de tres disparos sobre la pantalla del osciloscopio.

Los cuatro trazos centrales, como ya se dijo, corresponden a la polaridad normal, es decir aquella en que la punta superior separada 300 micrómetros de la inferior en el electrodo estimulador, se hace positiva. En éstos se observan con claridad los diferentes componentes del potencial solo hasta que la misma se encuentra en el borde superior del NSQ.

La columna de la derecha como se mencionó anteriormente, corresponde a la polaridad normal del electrodo de estimulación, cuando la punta inferior de éste se encuentra a 300 y en el polo superior del NSQ, habiéndose aumentado la intensidad de la estimulación a 5 miliamperios. Se observan en ellos, los distintos componentes del potencial provocado en LC por la estimulación del NSQ.

B) EFECTO DE LA INTENSIDAD DE CORRIENTE.

La fig. 6 nos muestra la variación de la amplitud del potencial provocado en el LC, cuando modificamos la intensidad de la corriente de estimulación. La polaridad utilizada en la unidad de aislamiento es reverse. La punta inferior del electrodo de estimulación, para la obtención de la gráfica se encuentra en quiasma óptico, 200 micras por debajo del NSD.

El trazo superior corresponde a 1 miliamperio, y no observamos potencial. En el trazo siguiente se incrementa 0.50 miliamperios. El tercer trazo fue tomado a 2 miliamperios, y ya observamos los componentes del potencial provocado. El cuarto trazo corresponde a 3 miliamperios, y también observamos el potencial.

c) EFECTO DE LA ESTIMULACION REPETITIVA.

La fig.7 nos muestra en el primer trazo, una disminución del 70 % en la amplitud del segundo potencial, cuando la separación entre el estímulo condicionante y de prueba es de 140 milisegundos.

En el segundo trazo la separación entre ambos estímulos es de 250 milisegundos, y la disminución de la amplitud del segundo potencial con respecto al primero, es del 50 %.

En el tercer trazo, la separación entre los estímulos es ya de 400 milisegundos, y aún se observa una disminución en la amplitud del segundo potencial de aproximadamente 5 % con respecto al primero.

d) LESION DEL SITIO DE REGISTRO.

La fig. 8 muestra en el trazo superior el potencial provocado en el LC por la estimulación del NSQ. El trazo inferior muestra la actividad eléctrica registrada en el mismo lugar después de haber pasado corriente directa, cinco miliamperios en cada polaridad, durante cinco segundos a través del electrodo de registro.

III.-ACTIVIDAD UNITARIA.

III.- REGISTRO DE ACTIVIDAD UNITARIA ESPONTANEA EN NSQ.

Un total de 52 neuronas se registraron. Las unidades registradas presentaron una frecuencia de descarga de 5 a 15 espigas por segundo. El ritmo de descarga observado no fue necesariamente uniforme, pues algunas veces se pudo observar una descarga en forma de salvas, con intervalos variables entre las mismas. Cerca de la neurona registrada fue frecuente detectar también otras unidades, observándose así un registro multiunitario. En todas las unidades se observó que éstas presentaban periodos de silencio que podían durar desde 10 segundos hasta 10 minutos, alternando con periodos de descarga. En general, las unidades que respondieron a la estimulación luminosa alterando su frecuencia de descarga, correspondieron

aproximadamente al 56%. En algunas penetraciones del microelectrodo fue imposible encontrar unidades que respondieran a la estimulación. Las manipulaciones a la unidad se efectuaron cuando el registro se mantuvo estable, al menos durante un minuto. Algunas unidades respondieron aumentando su frecuencia de descarga ante la estimulación con destellos luminosos de 20 Hz durante 0.5 a 2.0 segundos (Cuadro 1). Como dicho cuadro indica, un 35% de unidades respondieron de esta forma; las figuras 11 y 12 corresponden a este tipo de unidades. Otras unidades respondieron disminuyendo su frecuencia de descarga, como lo demuestra la figura 13, correspondiendo a un 21%. En un 44% de las unidades no fue posible, o bien detectar cambios en la frecuencia debidos a estimulación luminosa (27%), o bien el cambio observado fue descrito como "efecto complejo", ya que no coincidía propiamente con alteraciones de la frecuencia de descarga (17%).

El análisis del trayecto dejado por la pipeta que se observó en el corte histológico, y la reconstrucción de los eventos ocurridos durante el trayecto con el protocolo de experimentación, mostró que la punta del microelectrodo registró la mayoría de las unidades en la región láteroventral del NSC. La figura 19 muestra en la fotografía el sitio de registro de las unidades mencionadas en la Figura 13. Los efectos mencionados fueron sistemáticamente reproducibles (Figura 11).

Las unidades sometidas a estimulación luminosa, y por este

medio clasificadas como neuronas con respuesta positiva y negativa a la luz (Gross et al, 1983), fueron luego sometidas a estimulación del LC.

En el cuadro 1 se consideran en porcentaje los resultados observados. Así, aquellas neuronas que respondieron a los estímulos luminosos incrementando su frecuencia de descarga, en un 55% decrecieron o inhibieron su frecuencia luego de estimulación al LC. Un 33% la incrementaron, solamente en un 5.5% no presentaron cambios, y el restante 5.5% presentó el llamado "efecto complejo".

Aquellas neuronas que respondieron a los estímulos luminosos disminuyendo su frecuencia de descarga, en su mayoría (55%) aumentó su frecuencia luego de estimulación al LC. Un 27% la disminuyó, y un 18% presentó "efecto complejo", no observándose unidades que dejaran de presentar cambio.

Aquellas neuronas que no respondieron a la estimulación con luz, luego de la estimulación eléctrica aplicada al LC distribuyeron el porcentaje de sus respuestas de la siguiente manera : 21% incremento la frecuencia de descarga, 43% la disminuyó, el 36% siguió sin presentar cambios. No se observaron unidades que presentaran como respuesta el llamado "efecto complejo".

Finalmente, aquellas neuronas que respondieron a la estimulación luminosa con "efecto complejo", al ser estimuladas con LC respondieron en un 67% con disminución de la frecuencia de

descarga, y en el 33% restante, nuevamente con aparición del "efecto complejo".

A la observación, el llamado "efecto complejo" se presenta como un probable cambio en la distribución de las espigas en el tiempo, es decir, un rascomodo de los intervalos interespigas. Los intervalos interespigas no fueron investigados en el presente trabajo.

En las figuras 18 y 19 se presentan fotografías de un sitio típico de registro y de estimulación, respectivamente.

Si se observaron efectos sobre la actividad de las unidades por estimulación luminosa, con pulsos únicos (Figura 11-B). Estos efectos fueron reproducibles en distintas unidades. Por otra parte, no se detectaron efectos de la aplicación de pulsos únicos al LC en las unidades registradas.

La aplicación al LC de un tren de estimulación con parámetros de los generalmente utilizados para manipular las neuronas registradas en el NSC (un tren de 20 a 30 Hz, de 0.2 a 0.3 mA, aplicado durante 0.5 a 2.0 segundos), produjo la aparición de ruidos respiratorios en el registro, los cuales duraron aproximadamente 10 segundos.

Figura 1

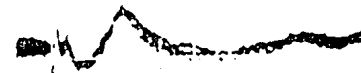
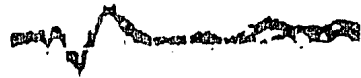
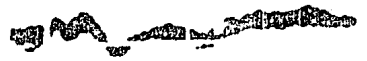
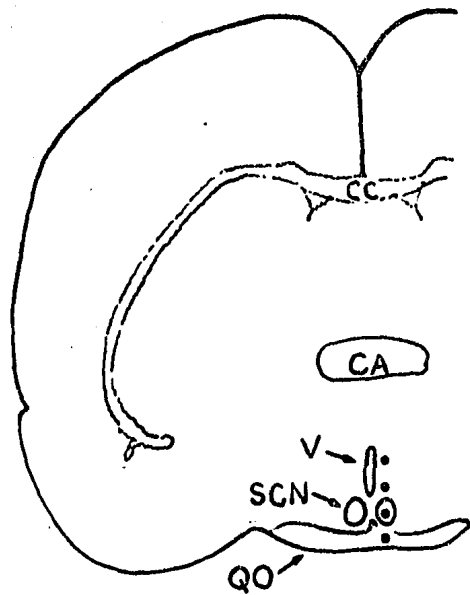


FIGURA NUMERO 1

Potencial registrado en el area del NSQ provocado por la estimulación del LC. Los sitios donde se registraron los potenciales presentados a la derecha se muestran en el esquema mediante puntos negros y corresponden al lugar donde la punta inferior del electrodo se colocó. El punto superior corresponde al potencial superior. La exploración se efectuó en pasos de 500um. Tras trazos fueron superpuestos en la pantalla del osciloscopio. CC= cuerpo calloso, V= III ventriculo, CA= comisura anterior, SCN= núcleo supraquiasmático, QO= quiasma óptico. Calibración: 20 mseg., 50 uV.

FIGURA 2

1

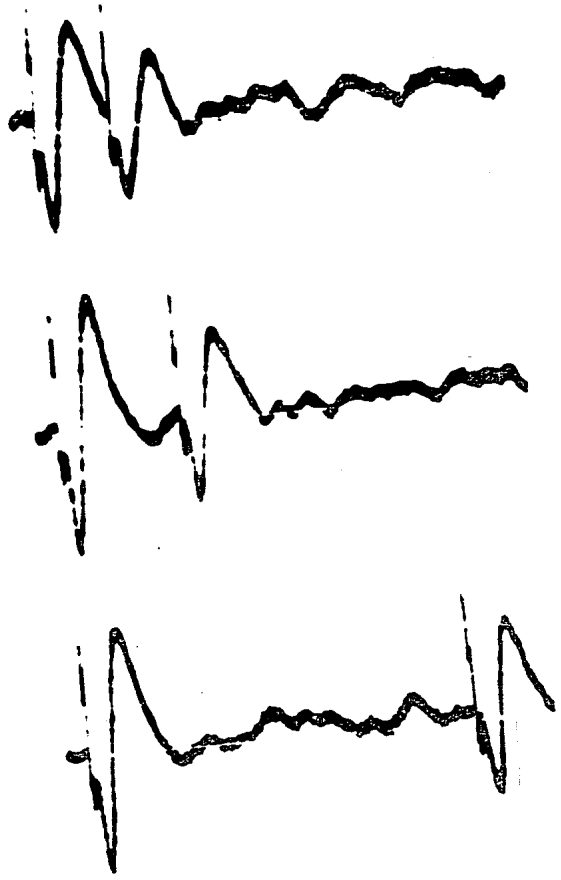
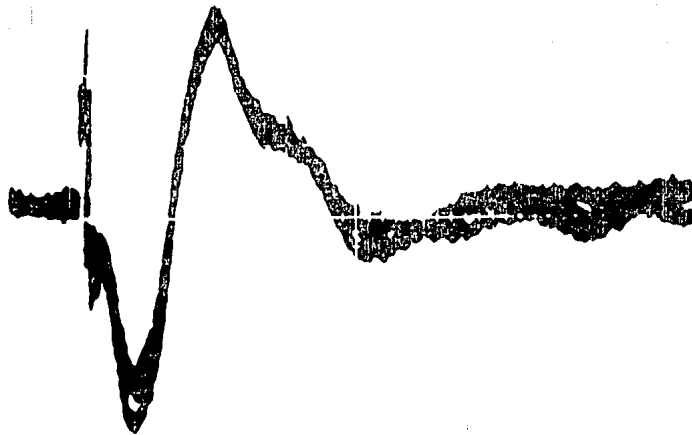


FIGURA NUMERO 2

Interacción del potencial registrado en el área del NSQ provocado por la estimulación pareada del LC. Los lapsos entre el estímulo condicionante y el estímulo de prueba son 90 mseg. para el trazo superior, 110 mseg. para el siguiente trazo y 340 mseg. para el trazo inferior. Calibración: 50 mseg., 50 μ V.

Figura 3

A



B



0.1

1.0

FIGURA NUMERO 3.

Efecto de la lesión electrolítica del sitio de registro sobre el potencial registrado en el área del NSQ provocado por la estimulación del LC. A: Potencial registrado en el área del NSQ antes de la lesión. B: Potencial registrado en el área del NSQ después de la aplicación de 10 mA. de corriente directa durante 5 seg. por ambas puntas del electrodo de registro. Cinco minutos transcurrieron entre el registro A y el B. La estimulación aplicada al LC en B fue la misma que la que se aplicó en A. Calibración: 20 mseg., 50 μ V.

Figura 4

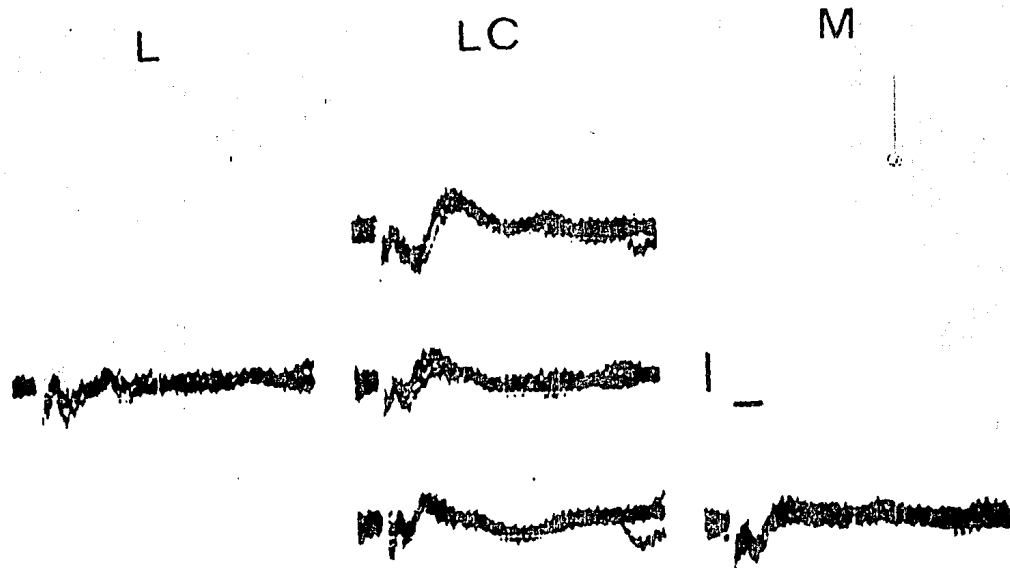


FIGURA NUMERO 4.

Potencial registrado en el área del NSQ izquierdo provocado por la estimulación del LC y de áreas adyacentes al LC. LC Trazo superior: Potencial registrado en el área del NSQ provocado cuando la punta del electrodo de estimulación estuvo localizada en el LC. Los trazos inferiores fueron obtenidos cuando la punta del electrodo de estimulación estuvo 1.0 mm. y 2.0 mm. por debajo del LC. L: trazo obtenido cuando las puntas del electrodo de estimulación se localizó 1.5 mm. lateral y 1 mm. por debajo de las coordenadas correspondientes al LC. M.: Trazo obtenido cuando la punta del electrodo de estimulación se localizó 0.8mm medial y 2.0 mm por debajo de las coordenadas correspondientes al LC. Calibración: 20 msec, 50 uV.

Figura 5

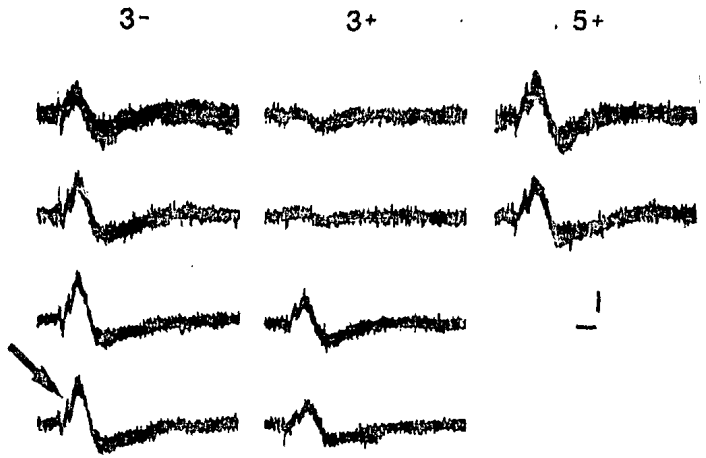
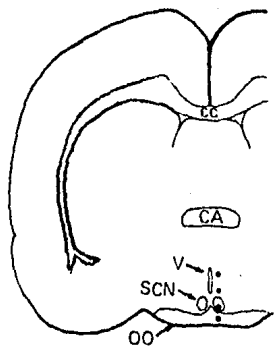
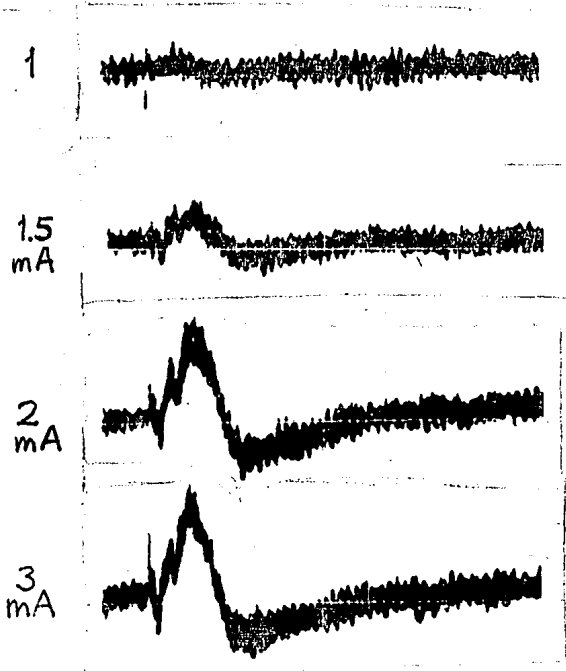


FIGURA NUMERO 5.

Potencial registrado en el LC, por la estimulación del área del NSQ, con diferentes polaridades de estimulación y conforme el electrodo de estimulación se aproximó al NSQ. Los puntos negros del esquema histológico indican la localización de la punta del electrodo de estimulación. 3- : Potenciales registrados en el LC cuando la polaridad de la punta del electrodo de estimulación en el NSQ fue negativa. La corriente de estimulación fue de 3 mA. 3+ 5+: En estos casos la polaridad de la punta del electrodo fue positiva y las corrientes aplicadas fueron respectivamente de 3 y 5 mA. La flecha indica el componente presináptico. SCN = núcleo supraquiasmático; O.D = quiasma óptico; V = III ventrículo; CA = comisura anterior. Calibración: 20 mseg., 100 uV. A

Figura 6

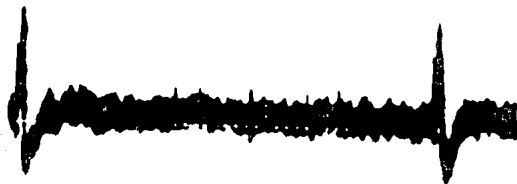
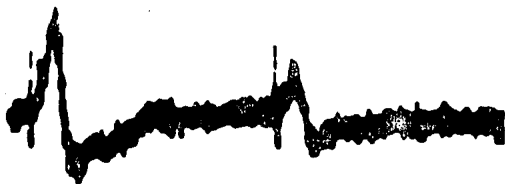


100-200

FIGURA NUMERO 6.

Potencial provocado en el área del NSQ por la estimulación del LC a diferentes intensidades de corriente de estimulación. Los números de la izquierda indican la corriente en mA. Calibración: 20 mseg., 50 uv.

Figura 7



0.1mV

1s

FIGURA NUMERO 7.

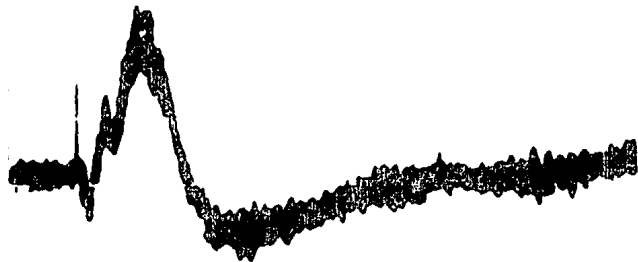
Interacción del potencial registrado en el LC por un estímulo condicionante al NSQ, sobre el potencial registrado en el LC por un estímulo de prueba aplicado al NSQ. Calibración : 50 mseg. 100 uv. para los dos trazos superiores y 100 mseg. para el trazo inferior.

Figura 8



Figura 8

A



B

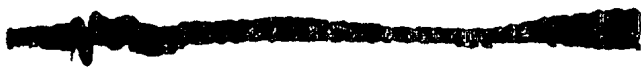


FIGURA NUMERO 8.

Efecto de la lesión electrolítica del sitio de registro sobre el potencial registrado en el LC provocado por la estimulación del NSQ. A: Potencial registrado en el LC antes de la lesión. B: Potencial registrado en el LC después de la aplicación de 10 mA de corriente directa durante 5.0 seg. por ambas puntas del electrodo de registro. Cinco minutos transcurrieron entre el registro A y B. La estimulación aplicada al NSQ en B fue la misma que la que se aplicó en A. Calibración: 20 mseg., 50 uA.

Figura 9

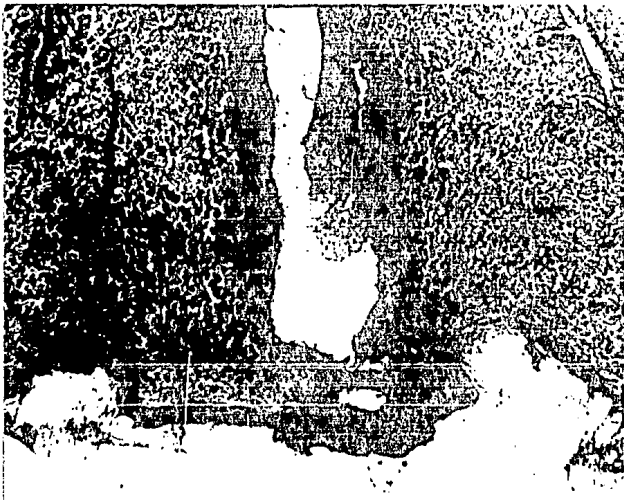
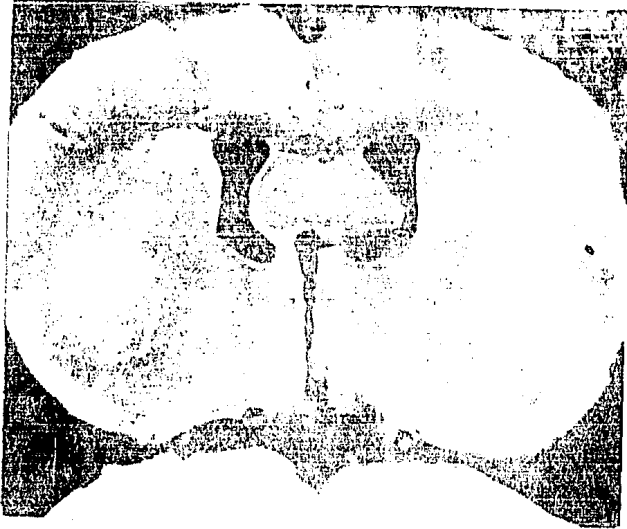


FIGURA NUMERO 9.

Fotografias de cortes histológicos representativos, que muestran los sitios donde la punta del electrodo registró los potenciales del NSQ mencionados en las figuras 1, 2, 3 y 4 que corresponde al sitio de estimulación cuando se registraron los potenciales en el LC, mencionados en las figuras 5, 6, 7 y 8. El sitio donde estuvo la punta del electrodo, fue destruido electrolíticamente.

10, que corresponde al sitio de estimulación cuando se registraron los potenciales en el LC, mencionados en las figuras 1, 2, 3 y 4.

Figura 10

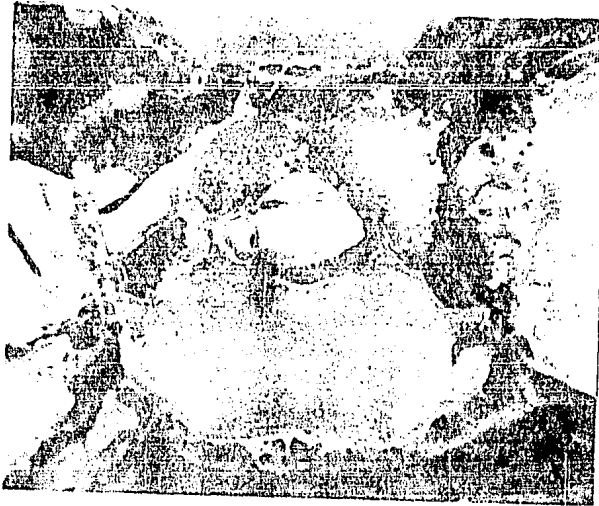


FIGURA NUMERO 10.

Sitio de estimulación del LC de la rata. Como se puede observar, el LC estimulado fue destruido electroquímicamente. El mismo lugar se utilizó como sitio de registro de los potenciales del LC mencionados en las figuras 5, 6, 7 y 8 cuando se estimuló el NSQ, y como sitio de estimulación cuando se registraron los potenciales en el NSQ mencionados en las figuras 1, 2, 3 y 4.

EFFECTO DE LA ESTIMULACION CON LUZ Y DE LA ESTIMULACION
ELECTRICA DEL LOCUS COERULEUS SOBRE LA FRECUEN-
CIA DE DESCARGA DE NEURONAS DEL NSQ EN %

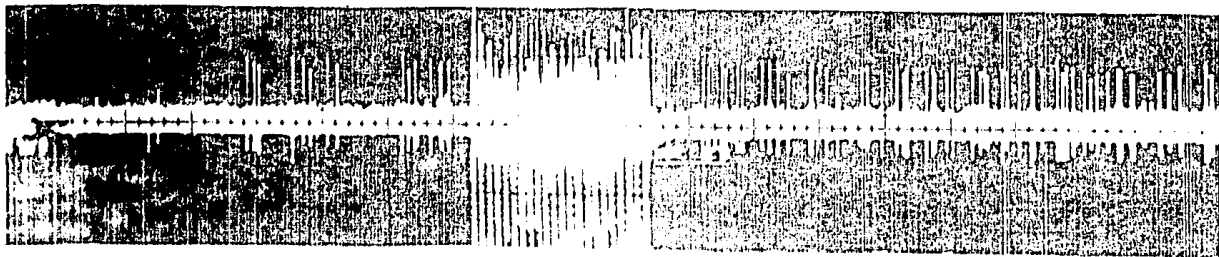
		n=52	ESTIMULACION CON LOCUS COERULEUS			
			INCREMENTO	DECREMENTO	SIN CAMBIO	EFFECTO COMPLEJO
ESTIMULACION CON LUZ	INCREMENTO	35	33.5	55.5	5.5	5.5
	DECREMENTO	21	55	27		18
	SIN CAMBIO	27	21	43	36	
	EFFECTO COMPLEJO	17		67		33

CUADRO 1

CUADRO 1.

Tipos de respuestas presentadas por 52 unidades registradas en el NSQ en 23 ratas ante la estimulación con destellos intermitentes de luz, y ante la estimulación del LC. En general se estimuló durante 0.5 a 1.5 segundos, con trenes de estímulos luminosos de 20 Hz y con trenes de estímulos eléctricos de 20 a 30 Hz, de 0.2 microamperios.

A



B

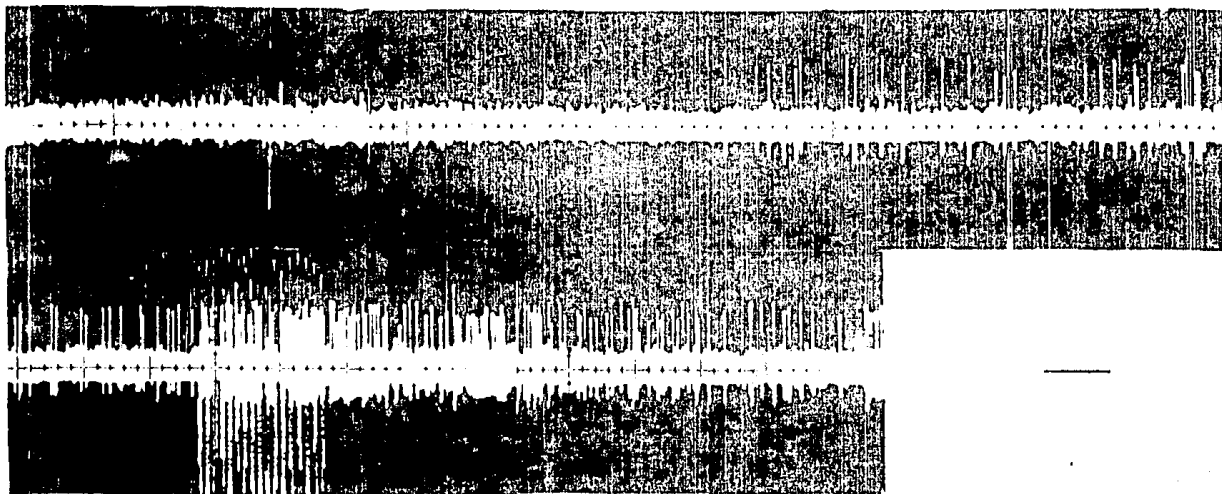
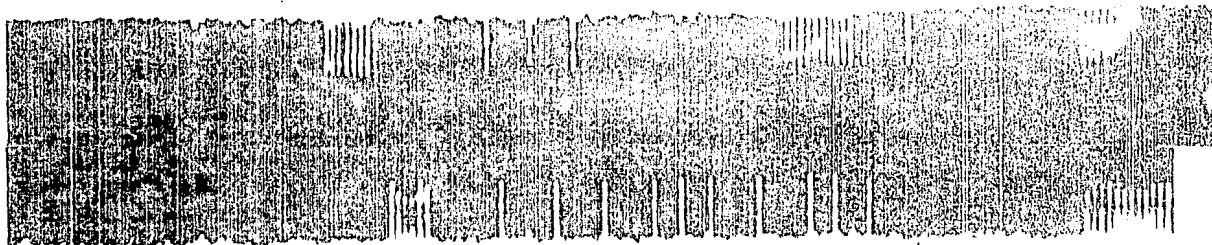


FIGURA 11

FIGURA NUMERO 11.

La respuesta de aumento de la frecuencia de descarga de unidades registradas en el NSQ por estimulación con destellos de luz fue sistemáticamente reproducible. La parte A muestra registros de una unidad previos al tren de estimulación de 20 Hz aplicado durante 1.0 segundo, e inmediatamente después del mismo. La parte B muestra la aplicación de un estímulo luminoso único en una neurona del NSQ durante su periodo de silencio, el cual determina descarga de la unidad. La aplicación de un nuevo estímulo único, y más tarde un tren de estimulación de 20 Hz aplicado durante 1.0 segundo, incrementan aún más la frecuencia de la unidad. La barra horizontal representa 0.5 segundo.



A



FIGURA 12

B

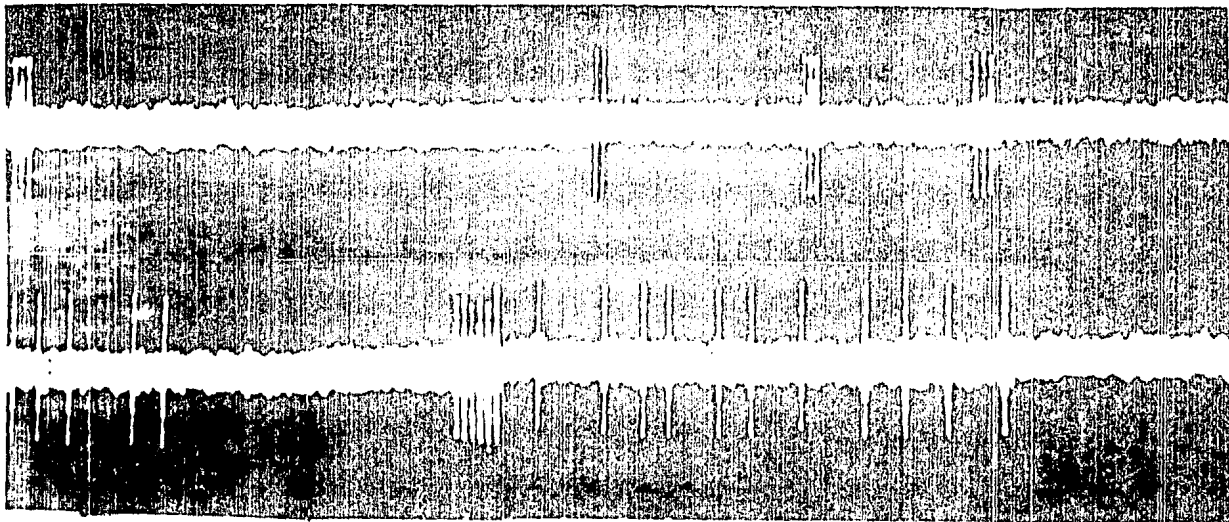


FIGURA 12

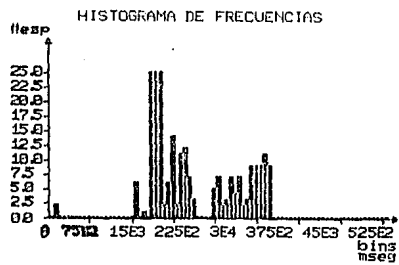


FIGURA NUMERO 12.

La respuesta de aumento de la frecuencia de descarga de unidades registradas en el NSG por estimulación con destellos intermitentes de luz fue sistemáticamente reproducida. A y B nos muestran los registros de dos unidades distintas en la misma rata, en los cuales se interrumpe el periodo de silencio de las unidades por estimulación sucesiva con destellos de luz de 20 Hz. La barra horizontal indica 0.5 segundos. El recuadro muestra un histograma periestimulo de otra unidad en el mismo animal, activada por la estimulación con destellos luminosos de 20 Hz, durante 2 segundos. La barra horizontal indica la duración de la estimulación.

FIGURA 13

FIGURA NUMERO 13.

La respuesta de disminución de la frecuencia de descarga de unidades registradas en el NSQ por la estimulación con destellos de luz fue sistemáticamente reproducible. La figura muestra el registro de otra unidad previo al tren de estimulación con destellos luminosos de 20 Hz durante 1.0 segundo, el efecto inhibitorio y la recuperación de la frecuencia de descarga. La barra horizontal representa 0.5 segundo.

A



B



C



FIGURA 14

FIGURA NUMERO 14.

La respuesta de disminución de la frecuencia de descarga de unidades registradas en el NSO por estimulación del LC fue sistemáticamente reproducible. A, B y C son registros de distintas unidades fotografiados en la pantalla del osciloscopio. La barra negra horizontal señala 0.5 seg. Los trenes de estimulación de 30 Hz fueron dados durante 0.5, 1.0 y 1.5 segundos.



LC 20Hz ↓



LC 30Hz ↓

FIGURA 15

FIGURA NUMERO 15.

La respuesta de inhibición de la frecuencia de descarga de unidades registradas en NSG por la estimulación con LC fue sistemáticamente reproducible. La parte A muestra el registro de una unidad inmediatamente previo al tren de estimulación de 30 Hz aplicado durante 1.0 segundos; se observa una inhibición de 1.75 seg. aproximadamente. La parte B muestra el registro de otra unidad en la misma rata, inmediatamente previo al tren de estimulación de 30 Hz, aplicado durante 0.75 seg; se observa una inhibición de 2.75 segundos, aproximadamente. La barra horizontal representa 0.5 segundo.



FIGURA 16

FIGURA NUMERO 10.

La primera parte del registro nos muestra la fase de silencio de una unidad en NSQ, en la que se observa el incremento en la frecuencia de descarga como respuesta a la aplicación de trenes de estimulación al LC de 30 Hz, aplicados durante 1.0 y 1.5 seg., respectivamente. La barra negra horizontal corresponde a 0.5 segundos.

A

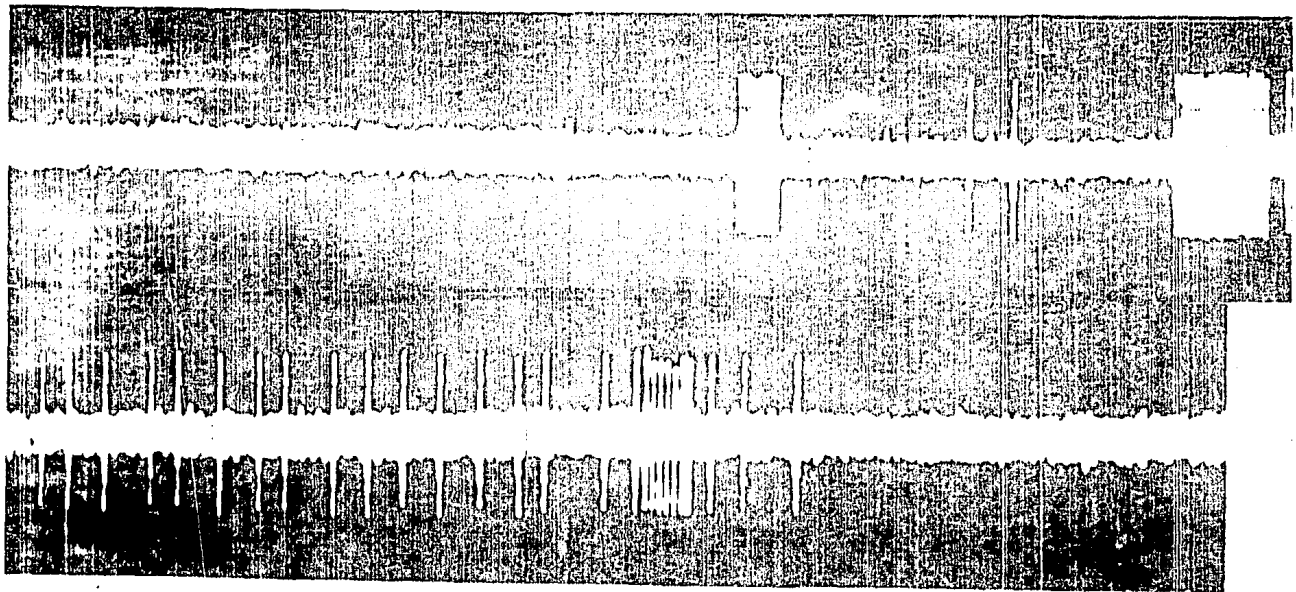


FIGURA 17

B

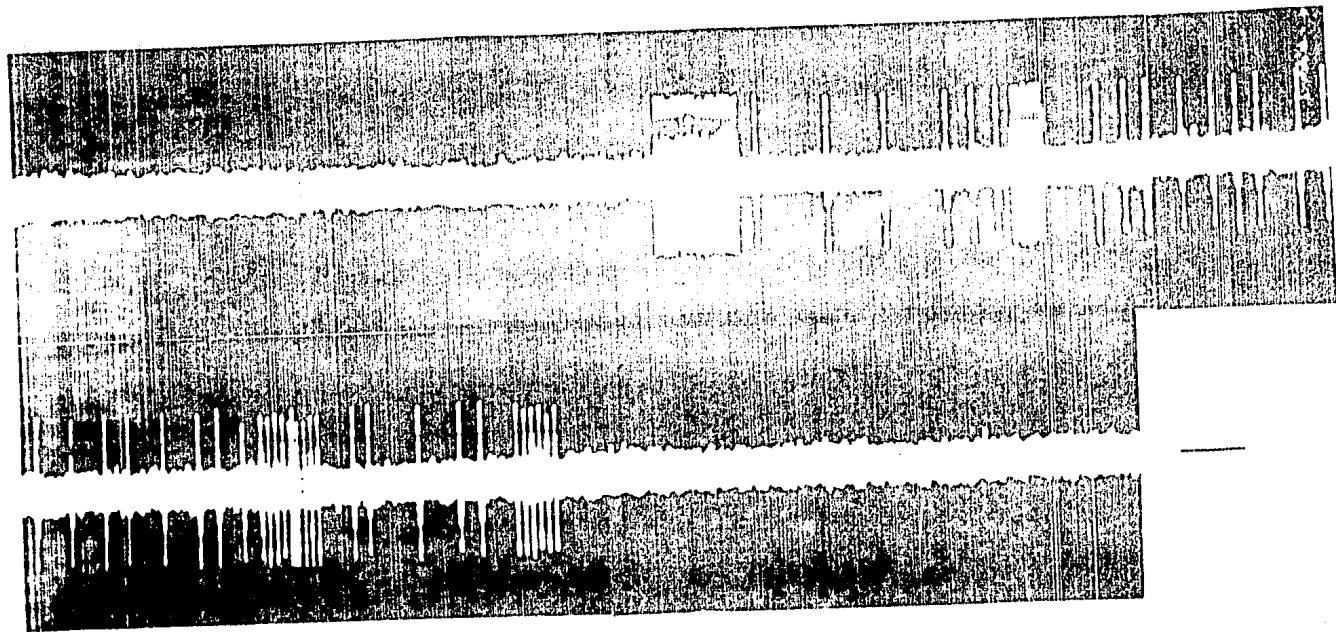


FIGURA 17

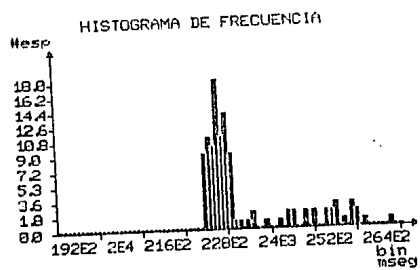


FIGURA NUMERO 17.

La respuesta de aumento de la frecuencia de descarga de unidades registradas en el NSQ por estimulación del LC, así como la disminución de la frecuencia de descarga de la misma unidad por estimulación con destellos luminosos, fue sistemáticamente reproducible. A y B corresponden a registros obtenidos de distintas unidades fotografiadas de la pantalla del osciloscopio. La primera parte de los registros muestran las fases de silencio de las unidades del NSQ y la respuesta a la estimulación del LC con trenes de 30 Hz. En la parte posterior de los registros observamos el efecto de frenado e inhibición de las descargas luego de la aplicación del destello luminoso de 20 Hz. La barra horizontal nos indica 0.5 segundos. El recuadro muestra un histograma periestimulo de otra unidad en el NSQ del mismo animal. Se observa aumento de la frecuencia de descarga. El tren de estimulación al LC fue de 30 Hz. con una duración de 0.8 segundos.

FIGURA NUMERO 18.

Fotografía de cortes histológicos que muestran la zona donde se encontró la pipeta de registro. La punta del microelectrodo registró las unidades del NSQ mencionadas en la figura 13.

FIGURA NUMERO 19.

Fotografía de cortes histológicos que muestran el sitio de estimulación del LC. El LC estimulado fue destruido electrolíticamente.

CAPITULO V DISCUSION.

I.-POTENCIALES PROVOCADOS.

El presente trabajo muestra evidencias electrofisiológicas que indican la existencia de una comunicación bidireccional entre el LC y el NSG.

La técnica de registro de potenciales provocados ofrece la posibilidad de registrar la actividad global generada en numerosos elementos neurales, debida a la estimulación localizada en otro conjunto de elementos neurales.

La estimulación de la región del LC provocó un potencial en la región del NSG, dicha actividad se presentó localizada a una zona específica que rodea al NSG lo que indica una zona de proyección del LC circunscrita a la región del NSG.

El cambio de signo del potencial provocado en las neuronas corticales por la estimulación eléctrica directa de la corteza cerebral fue interpretado como indicador de la zona generadora del potencial por Chang, en 1951 y Eccles, en 1951. El potencial registrado en la región del NSG, presenta una primera inversión en el borde superior del NSG, y una segunda inversión en la zona correspondiente al borde inferior del mencionado núcleo, lo que sugiere que ésta es la zona generadora

del potencial.

Malliani et al., en 1965, registraron potenciales provocados en regiones hipotalámicas de gatos por estimulación somática. Los autores consideraron como evidencia de que el potencial representa actividad local desencadenada por el estímulo, al hecho de haber podido registrar bipolarmente dicho potencial. El potencial provocado por estimulación del LC, en la zona del NSQ conservó sus características frente al cambio de polaridad del estímulo.

Para confirmar que la respuesta registrada es de origen local y no se trata de una mera difusión de corriente eléctrica desde regiones distantes activas, lesionaron electrolíticamente la zona de registro. La respuesta bipolarmente registrada fue entonces abolida. En aquel caso y en el que nos ocupa, si la respuesta registrada bipolarmente hubiese sido ocasionada por difusión de corriente desde regiones activas lejanas, entonces el sitio lesionado hubiese fungido como un mero conductor y, el gradiente registrado hubiese permanecido inalterado. La destrucción electrolítica del sitio ocupado por el electrodo de registro de la región del NSQ, donde se registra el potencial provocado por la estimulación del LC, tuvo como consecuencia que no pudiera registrarse más dicho potencial ante la siguiente estimulación del LC, debido a que la lesión acabó con los generadores de actividad (Rudomin et al., 1965).

La zona de proyección del LC parece ser específica, debido a

que cuando el electrodo de estimulación se encuentra lateral o medial al LC ya no es posible registrar el potencial provocado en el NSQ. Esto también indica que las zonas adyacentes al LC no son las responsables de la generación del potencial en el NSQ, y además indica que las corrientes de estimulación utilizadas no alcanzan a difundir y por lo tanto a activar las áreas adyacentes probadas.

Cuando el electrodo de estimulación se encuentra en zonas adyacentes al LC y se utilizan las mismas corrientes de estimulación, estas no alcanzan a activar al LC puesto que no se registra potencial en NSQ, esto quiere decir que las mismas intensidades aplicadas al LC no difunden a las zonas adyacentes y por lo tanto no las activarían en el supuesto caso que estas zonas adyacentes proyectasen a la región del NSQ.

La aplicación de pares de pulsos al LC dió por resultado que la respuesta provocada por el estímulo de prueba fuera de menor amplitud que la provocada por el estímulo condicionante.

La transmisión sináptica puede ser bloqueada por estimulación iterativa, la magnitud del bloqueo de la transmisión sináptica por la estimulación en rápida sucesión parece estar directamente relacionada con el número de sinápsis involucradas en la generación del potencial (Chang, 1959). Patton y Amazzian, en 1954, registrando la respuesta provocada en la pirámide por estimulación cortical, lograron bloquear por estimulación repetitiva la onda que representa actividad de

interneuronas corticales la cual es producida sinápticamente.

El potencial provocado en NSQ por la estimulación del LC, no desapareció ni aún cuando la separación entre el estímulo de prueba y el condicionante fue solo de 70 mseg. Este fue el caso en que se obtuvo la mayor disminución en amplitud del segundo potencial provocado que correspondió a un 67% del primer potencial. Amaral y Sinnamon, en 1977, destacaron que el LC, al igual que los ganglios simpáticos, es un sistema que no funciona a altas frecuencias de estimulación. Walter y Eccleston, en 1973, demostraron que al estimular el LC en ratas, aumentó la cantidad de uno de los más abundantes metabolitos de la norepinefrina en la corteza cerebral, con lo que infirieron un aumento en el recambio de NE debido a la estimulación eléctrica del LC. El mayor aumento de dicho metabolito lo obtuvieron estimulando con dos puizos por segundo, con mayores frecuencias de estimulación se obtuvieron valores menores. Bishop y Heinbecker, en 1932, trabajando en el simpático cervical de gatos y conejos, mostraron que conforme acortaban el tiempo transcurrido entre dos estímulos aplicados al nervio preganglionar, la respuesta registrada en el nervio postganglionar se ve abatida gradualmente.

El tercer componente del potencial registrado en el NSQ, que corresponde a la onda más lenta fue el único que disminuyó su latencia al pico, lo que pudiera significar que los elementos neurales y sinápticos involucrados en la generación de esta

componente estuvieran siendo facilitados.

El desarrollo de los cambios de amplitud que sufren los componentes del potencial a lo largo de la doble estimulación fueron paralelos para los tres componentes, lo que sugiere que las propiedades de los elementos neurales generadores de cada componente podrían ser semejantes y que la probable vía proveniente del LC hacia la región del NSQ, desencadena en esta zona actividad sináptica.

Berk y Finkelstein, en 1981, aplicando inyecciones masivas de HRP en la región preóptica medial del hipotálamo de la rata, reportan pocas neuronas marcadas en el LC. No hacen alusión específica a inyecciones en el NSQ, sin embargo en los datos reportados las zonas de inyección corresponden al área del NSQ. Es muy posible que debido a esta inyección masiva de la enzima, fibras del NSQ la hayan capturado y por lo tanto, de algunas neuronas de aquellas marcadas en LC se origine la posible proyección hacia el NSQ.

Por otro lado Pickard, en 1982, aplicando HRP en el hipotálamo del hamster describe que en algunos experimentos encontró escasas neuronas marcadas en el LC. Con esta técnica se confirman proyecciones ya descritas, sin embargo el autor no habla más sobre la proyección que desde el LC irradió a NSQ. Es muy posible que esta proyección presente ciertas características que la hagan difícil de detectar con la técnica de HRP, o bien que sea una proyección particular del hamster. A pesar de que

el LC tiene solo unas 1600 neuronas (Swanson, 1976), la organización eferente del LC es compleja, ya que sus axones arborizan extensamente para inervar muchas áreas cerebrales, y entre las del cerebro anterior, el hipotálamo.

El mayor tracto de fibras que sale del LC hacia estas áreas es el haz dorsal tegmental (Ungerstedt, 1971). Se dirige rostralmente y a nivel del fascículo retroflexo se hace ventral para juntarse con el haz medial del cerebro anterior (Moore y Bloom, 1979).

Estas proyecciones eferentes han sido estudiadas desde los años 60, cuando Dahlstrom y Fuxe, en 1964, demostraron la existencia de catecolaminas en algunas neuronas del tallo cerebral, llegando incluso a examinar algunas neuronas del LC.

Una segunda idea importante se refiere a la organización espacial del LC, la cual probablemente es determinada por estas proyecciones eferentes. En este sentido Mason y Fibiger, en 1979, usando HRP, aportan datos que se corresponden con los de Iijima y Ogawa, en 1980; Loughlin et al., en 1982; Waterhouse et al., en 1983; McBride et al., en 1985 y Loughlin et al., en 1986 a,b; según los cuales existe una topografía, en la que las neuronas de la porción rostral del LC son las que proyectan a hipotálamo.

Recientes descubrimientos (Lundberg et al., en 1980; Hunt et al., en 1981; Hokfelt et al., en 1983 a,b; Everitt et al., en 1984) de una subpoblación de neuronas del LC que contienen

neuropéptido Y (NPY), así como el hecho de que algunas de estas neuronas proyectan al cerebro anterior (Gustafson y Moore, 1985; Holets et al., 1985; Holets et al., 1985; Sawchanko et al., 1985) complican aún más la búsqueda de ésta organización sugiriendo que el LC exhibe una organización quimiotrópica en estas proyecciones eferentes. Así, Allen et al., en 1983, por un lado y DeQuiot y Emson, en 1986 a,b por otro, encuentran que el hipotálamo es, de los campos terminales para estas fibras peptidérgicas, uno de los sitios que contiene más plexos axonales NPY+, los cuales se organizan de una manera semejante a la inervación noradrenérgica de estas áreas. Gustafson, en 1986, usando NPY inmunohistoquímico combinado con fluorogold como marcador retrógrado, encuentra esa organización quimiotrópica, en la que las fibras que desde el LC llegan a hipotálamo tienen su origen en la parte más ventral de la porción dorsal compacta. Ocupando éstas células el segundo lugar en importancia dentro del conjunto de neuronas NPY+ encontradas en LC. El autor, en concordancia con Loughlin et al., en 1986 a,b; sugiere que probablemente representen una verdadera inervación del LC al hipotálamo, en particular al área supraquiasmática y periventricular.

Aunque en la rata no existen evidencias neurohistológicas de una proyección del LC al NSQ, si existen estas evidencias en otras especies (Pickard, en 1982). Oksche, en 19.., encuentra que el área del NSQ del *Passer domesticus*, es rica en aferentes monoaminérgicas procedentes del tronco cerebral bajo. En

contraste con lo que se observa en mamíferos, estas fibras pertenecen exclusivamente al sistema noradrenérgico.

Así, esta primera parte del presente trabajo demuestra electrofisiológicamente:

primero: la posible existencia de una vía entre el LC y el NSQ en la rata. Segundo: que existe en el NSQ una zona específica que es activada por la estimulación del LC. Tercero: que existe en el LC una zona específica de proyección hacia el NSQ. Cuarto: que muy posiblemente la estimulación del LC genera actividad transináptica en el NSQ.

Nos ocuparemos ahora, de las evidencias electrofisiológicas que indican la existencia de una comunicación entre el NSQ y el LC.

La estimulación de la región del NSQ provocó un potencial en la región del LC, dicha actividad se presentó localizada a una zona específica que rodea al LC.

El potencial provocado por estimulación del NSQ, en la zona del LC conservó sus características frente al cambio de polaridad del estímulo, lo que se consideró como evidencia de que el potencial representa actividad local desencadenada por el estímulo.

Para confirmar lo anterior se lesionó, al igual que en el potencial descrito anteriormente, la zona de registro. Así la destrucción electrolítica del sitio ocupado por el electrodo de registro en la región del LC, donde se registra el potencial

provocado por la estimulación del NSQ, tuvo como consecuencia que no se pudiera registrar más dicho potencial ante la siguiente estimulación del NSQ debido a que la lesión acabó con los generadores de actividad.

Quando el electrodo de estimulación se encuentra en zonas adyacentes al NSQ y se utilizan las mismas corrientes de estimulación, estas no alcanzan a activar al NSQ puesto que no se registra potencial en LC. Esto quiere decir que estas intensidades de corriente aplicadas al NSQ no difunden a zonas adyacentes y por lo tanto no las activarían en el caso de que estas zonas adyacentes proyectasen al LC.

Debido a que el núcleo mesencefálico del nervio trigémino se encuentra localizado inmediatamente lateral al LC, se descartó la posible presencia de artificios eléctricos de naturaleza muscular en el registro del potencial, cuando se registró el mismo tipo de actividad provocada, en animales a los que se les administro flaxedil. No se encontraron diferencias entre el potencial registrado en animales paralizados, respecto al registro de animales no paralizados.

La aplicación de pares de pulzos al NSQ dió por resultado que la respuesta provocada por el estímulo de prueba fuera de menor amplitud que la provocada por el estímulo condicionante. Así, cuando ambos estímulos tuvieron una separación de 150 msec, la disminución en la amplitud del segundo potencial fue de las tres cuartas partes de la amplitud del primer potencial. Cuando

la separación entre los estímulos fue de 275 msec., la disminución del segundo potencial con respecto a la amplitud del primero fue de aproximadamente la mitad (54%). Finalmente, cuando la separación entre los estímulos alcanzó 425 msec. la reducción de la amplitud del segundo potencial respecto del primero fue de solamente el 10%.

En el potencial provocado en el LC por la estimulación del área del NSQ, se observó mayor sensibilidad a la estimulación con estímulos dobles lo que se evidenció en la menor amplitud alcanzada por el segundo potencial y en el acortamiento de las latencias. El desarrollo de estos cambios a lo largo de la doble estimulación fue paralelo para los dos componentes post-sinápticos. El componente presináptico, aunque decrece en amplitud, mantiene siempre su latencia.

Trabajos de histología han resultado infructuosos para demostrar proyecciones del Área del NSQ al área del LC en la rata. Por ejemplo, Kucera y Favrod, en 1979, enfatizan la dificultad que presentan los estudios que pretenden identificar las eferencias que emite el NSQ. Swanson y Cowan, en 1975, no observaron proyecciones extensas del NSQ, pero remarcan que la técnica de autoradiografía pudiera ser ineficiente para demostrar axones de muy pequeño diámetro. Las fibras encontradas por la técnica de Nauta así como aquellas marcadas por HRP son de hecho muy finas, probablemente por debajo de un micrómetro. Más aún, debe enfatizarse que la vía degenerada por Kucera y Favrod, no es

un tracto conspicuo. Esta constituido por axones dispersos. Por esta razón ellos tubieron que usar reconstrucciones espaciales de las preparaciones con medidas fotométricas muy precisas para obtener un patrón que probablemente corresponda a tales fibras nerviosas, delgadas, debilmente marcadas y dispersas. Lo anterior hubiera sido muy dificil sin el antecedente de su presencia, dado por la técnica de Nauta.

Cedarbaum y Aghajanian, en 1978, usando la técnica de rastreo retrógrado de la HRP para estudiar las proyecciones aferentes al LC de la rata, enfatizan que no observaron neuronas marcadas en el NSQ. Sin embargo Sakai, en 1977, trabajando con la misma técnica, pero en el gato, reporta escasas neuronas marcadas en el NSQ por la aplicación de la enzima en el LC-alfa. En resumen, se tienen evidencias histológicas, de una proyección escasa del NSQ al LC en el gato, la cual aparentemente no existe en la rata.

Esta disparidad de resultados podria indicar diferencias anatomicas entre ambas especies, sin embargo tambien podria indicar diferencias de sensibilidad de las tecnicas utilizadas. Asi, por ejemplo, en 1976 Broadwell y Jacobowitz, inyectaron HRP en el bulbo olfatorio (BO) de la rata y encontraron neuronas marcadas en el LC. Nueve años más tarde, Shipley et al, utilizando la técnica de HRP conjugada con aglutinina de germen de trigo reportan una sorprendente inervación de cuando menos al 40% de las neuronas del LC sobre el BO.

Así, esta segunda parte del presente trabajo haciendo uso de la técnica de potenciales provocados, encuentra: primero- evidencias de la existencia de una vía de proyección desde el área del NSQ hacia el área del LC. Segundo- que existe una zona específica de proyección dentro del NSQ hacia el LC. Tercero- que existe una zona específica en el LC que es activada por la estimulación del NSQ. Cuarto- que es muy posible que la estimulación del NSQ genere actividad transináptica en el LC.

Detallados estudios neuroanatómicos (Fuxe, en 1963; Kromer, en 1980; Lindvall, 1974 y Swanson, en 1975), han mostrado en la rata que el cuerpo geniculado lateral en su parte dorsal, recibe una densa proyección derivada exclusivamente de las neuronas noradrenérgicas del LC. La mayoría de estas fibras ascienden a través del haz dorsal noradrenérgico, trayendo también fibras del LC contralateral.

Por otro lado, algunas células ganglionares de la retina proyectan directamente a la parte ventral del NSQ (Hendrickson et al., 1972; Moore y Lenn, 1972), así como a la parte ventral del núcleo geniculado lateral (Cajal, 1911). Hay también una proyección desde la parte ventral del núcleo geniculado lateral a la parte ventral del NSQ (Swanson et al., 1974; Ribak y Peters, 1975; Moore et al., 1984), esta parece ser una vía menos directa que influye en la actividad neuronal del NSQ ventral.

Watts y Swanson, en 1986 y 1987, encuentran que el NSQ desde su parte dorsal, también envía fibras directas al núcleo

geniculado lateral, a través de fibras que corren sobre el quiasma óptico y a lo largo de la parte dorsomedial del tracto óptico. Esta vía puede proveer un flujo bidireccional de información.

Además es conocido que neuronas inmunoreactivas al NPY (Swanson et al., 1984), proyectan al NSQ desde el núcleo geniculado lateral parte ventral. La significancia de esta vía debe aún determinarse.

Por otro lado, parece que la proyección entre el NSQ y el núcleo geniculado lateroventral, así como el núcleo geniculado lateral ventral sobre otros sitios del cerebro (Swanson et al., 1977; Pickard, 1985; Watts y Swanson, 1987), están envueltos en los cambios de fases de ritmos influenciados por la luz. Para la mayoría de las proyecciones del NSQ son muy valiosas las pequeñas cantidades de luz (Watts y Swanson, 1986) que reciben los núcleos, a los que estas proyecciones influncian en sus respuestas circádicas, de manera total. Este hecho adquiere mayor relevancia a la luz del descubrimiento de estos mismos autores al respecto de la densa proyección del NSQ que termina en células relativamente esparcidas en la zona comprendida entre el NSQ, el núcleo paraventricular, el área hipotalámica anterior y el núcleo periventricular. Casi todos los trabajos que estudian las proyecciones eferentes del NSQ han notado esta región, aunque nunca fue interpretada como un campo terminal. En línea general los resultados presentados por Watts y Swanson, sugieren que

patrones circádicos de actividad neuronal generada en el NSQ son relevos de circuitos efectores en dos fases, con células inervadas por el plexo subparaventricular encargado de suministrar más a lo lejos, grandes entradas encargadas quizás de amplificar la influencia del NSQ, y proveer sitios adicionales para la modulación diferencial de ritmicidades particulares. Los sitios inervados directamente por el NSQ y la zona subparaventricular son: hipotálamo, parte del septum, tálamo y sustancia gris periacueductal. Uno de los seis grupos de fibras reportados por los autores, continúan su camino desde la zona subparaventricular, dando origen a un plexo moderadamente denso de fibras en el núcleo dorsomedial, en los dos tercios dorsales de las células que rodean al núcleo ventromedial y en el área hipotalámica posterior. Estas regiones también parecen estar inervadas por fibras de la zona subparaventricular, aunque de ellas la mayoría de las fibras entran al área hipotalámica posterior y corren a lo largo de la sustancia gris periacueductal. La región en la que estas fibras se distribuyen están implicadas en muchos tipos de respuestas, haciendo muy difícil la especulación sobre su significancia funcional.

II. ACTIVIDAD UNITARIA.

La estimulación eléctrica repetitiva del LC ocasionó disminución o aumento de la frecuencia de descarga de algunas neuronas localizadas en el NSQ de ratas.

Se ha reportado que la estimulación eléctrica repetitiva del LC produce un fuerte efecto supresor sobre la descarga de neuronas en la corteza del cíngulo (Dillier et al., 1978), en células de Purkinje de la corteza cerebelosa (Hoffer et al., 1973), en células piramidales del hipocampo (Segal y Bloom, 1974), y en neuronas de la corteza sensoriomotora (Phillis y Kostopoulos, 1977). Estos reportes indican que es necesario aplicar estimulación repetitiva al LC para obtener efectos supresores pronunciados y que con la aplicación de pulsos únicos fue raro y difícil observar respuesta alguna. Dillier et al., en 1978, obtuvieron un aumento en la frecuencia de descarga de las neuronas límbicas que registraban, solo en el 9%. Solano et al., en 1980 y 1981, al estimular neuronas de tubérculo olfatorio encontraron un mayor porcentaje de neuronas cuya frecuencia disminuía ante la estimulación del LC con bajas frecuencias. Los anteriores grupos de trabajo reportaron que las respuestas fueron observadas entre los 0 y 200 milisegundos después de terminado el tren de estimulación. De igual forma, en el presente trabajo la respuesta estuvo francamente instalada inmediatamente al terminar el tren de estimulación. En algunas neuronas fue posible observar disminución y en otras aumento de la frecuencia de descarga durante la estimulación con frecuencias de 20 y 30 Hz. Con la aplicación de pulsos únicos no fue posible detectar cambio alguno en la frecuencia de descarga. El hecho de que tanto en el N50 como en las otras estructuras

reportadas no se observen efectos con pulsos únicos de estimulación sobre la frecuencia de descarga de las neuronas y que sea necesaria una estimulación repetitiva al LC para obtener respuesta, sugiere que, como ya ha sido mencionado por Hoffer et al., en 1973, la acción del LC parece ser una influencia a largo plazo más que una influencia para efectos inmediato. Estos mismos hechos indican que las terminales de las fibras del LC requieren de una activación mantenida para ocasionar un cambio en la frecuencia de descarga de las neuronas inervadas.

Phillis y Kostoupoulos, en 1977 reportaron que los largos lapsos de supresión de la frecuencia de descarga presentados a la estimulación del LC por las neuronas corticales, estuvieron asociados a trenes de estimulación también largos. El hecho de que la respuesta de las unidades registradas en el NSQ haya sido un aumento o una disminución de la frecuencia de descarga, y el hecho de que una proporción mínima de neuronas no hayan respondido a la estimulación del LC sugiere que la proyección de las fibras del LC hacia las neuronas del área del NSQ es específica, pudiéndose pensar que solo cierto tipo de neuronas del NSQ están inervadas por el LC.

Aún queda por demostrar el neurotransmisor involucrado en esta acción. Es probable que la noradrenalina lo sea, puesto que al ser aplicada esta sustancia iontoporéticamente en otras regiones inervadas por el LC, se simula la supresión de la descarga obtenida por la estimulación del LC (Dillier et

al.,1978; Hoffer et al.,1973; Segal y Bloom, 1974; Phillis y Kostoupeoulos, 1977).

Nakai y Takatori, en 1974, así como Rogawski y Aghajanian, en 1980, al estimular eléctricamente la región del LC demostraron un incremento en la frecuencia de descargas de las neuronas del núcleo geniculado lateral parte dorsal. Rogawski y Aghajanian, encuentran que este efecto puede ser reproducido por la administración iontoforética de noradrenalina en la vecindad de las neuronas del núcleo geniculado lateral parte dorsal. Experimentos realizados con una serie de agonistas y antagonistas demostraron que la respuesta a la noradrenalina es mediada por un adreno receptor de tipo alfa. Con lo anterior, parece razonable atribuir los efectos facilitados por la estimulación de la región del LC, con bajas frecuencias, a la liberación de norepinefrina por las fibras coeruleo-geniculado.

Finalmente, el otro neurotransmisor posible, es el NPY (Gustafson y Moore, 1985; Gustafson,1986).

Un tren de estimulación produjo en algunas neuronas del área del NSO un aumento y en otras neuronas, una disminución de su frecuencia de descargas; efectos mismos cuyo máximo fue generalmente observado en los instantes inmediatos que siguieron al cese del tren. Recordemos que las unidades del NSO antes de ser estimuladas con estímulos aplicados al LC, fueron sometidas a estimulación con destellos luminosos. Así, de la población neuronal que incrementó su frecuencia de descarga con luz, la

mayoría (55%) decrementó su frecuencia ante el estímulo con LC. De ellas solo el 5.5% no presentó ningún cambio. Mientras que, de aquellas neuronas que decrementaron su frecuencia con luz, la mayoría (55%) incrementó su frecuencia de descarga al recibir la estimulación del LC. Del grupo de neuronas que no presentaron cambio ante la luz, un 36 % tampoco presentó cambio por la estimulación del LC.

Solano, en 1981, registra la presión sanguínea de ratas a las que aplica trenes de estimulación en LC, mientras registra en tubérculo olfatorio. Observa que la misma forma de estimulación produce una respuesta hipertensiva cuyo máximo se alcanza a los tres minutos de haber aplicado el estímulo. Descarta que los cambios en las frecuencias de descarga de sus unidades pudieran deberse a la presión arterial al no encontrar un paralelismo entre la alteración de la presión arterial y los cambios en las neuronas.

Por otro lado podría pensarse que un supuesto efecto de los cambios en la presión sanguínea sobre la actividad de las neuronas registradas pudiese ser dependiente del tipo de neuronas registradas, así como de sus propiedades y características de excitabilidad. Entonces el hecho de que es posible obtener respuesta de aumento de la frecuencia de descarga, respuesta de disminución de la frecuencia de descarga y de que una proporción de las unidades no respondan junto con el hecho de que estos tipos de respuestas puedan ser registrados en un mismo

experimento, sugieren que , los efectos en la frecuencia de descarga de las neuronas del area del NSQ por la estimulación del area del LC, no son consecuencia de los cambios en la presión sanguínea ocasionados por la misma estimulación.

Además, las neuronas del NSQ registradas presentaron una actividad espontánea cíclica alternando periodos de silencio con periodos de descarga. El rango de frecuencias fue de 4-15 espigas por segundo. La respuesta de las unidades del area del NSQ ante la estimulación del area del LC, dependió del estado de descarga o silencio en que se encontraran previamente, así como de la presencia de un condicionamiento dado por la estimulación luminosa. En algunas unidades registradas en el area del NSQ las respuesta de incremento o decremento de la frecuencia de descarga ante el tren aplicado al area del LC fue sistemáticamente agudizada ante la presencia de estimulaciones sucesivas al LC.

Estos resultados son concordantes con los obtenidos con la técnica de potenciales provocados, y además sugieren que la influencia moduladora que podría estar ejerciendo el area del LC sobre las unidades del NSQ está condicionada a los distintos estados de excitabilidad en que se encuentran las neuronas.

III. COMENTARIO FINAL.

Nuestros resultados indican que hay una via bidireccional

que comunica el área del LC y el área del NSQ.

Evidencias experimentales previas indican que el estro persistente, fenómeno que depende de la integridad del NSQ, fue afectado por la lesión del LC, lo que sugiere la particularidad moduladora LC--> NSQ. Lo anterior más el hecho del registro de actividad eléctrica provocada en el NSQ por la estimulación del LC, apoya la existencia de éste sustrato anatómico que explica los efectos sobre el estro persistente por lesión del LC.

Así, las zonas de inversión del potencial que coinciden con los bordes superior e inferior del NSQ pueden indicar que son las zonas activas generadoras del potencial registrado en el área del NSQ.

Nuestro trabajo sugiere también la existencia de fibras del área del NSQ al área del LC. Estas fibras no fueron descritas por diferentes autores, sin embargo Sofroniew, en 1980, demuestra que hay fibras del NSQ hacia otro tipo de regiones más caudales al LC mediante una técnica neurohistológica más sensible y específica, esto podría explicar porque técnicas tales como la HRP no lograban detectar las fibras. Lo anterior implica que se trata de una vía con fibras delgadas y escasas.

Pickard y Silverman, en 1981, trabajando en hamster y utilizando la HRP como un trazador molecular anterógrado que inyectaron dentro del humor vítreo para marcar las células ganglionares de la retina, demostraron usando la tetramethylbencidina la presencia de fibras retinofugas y

proveyeron así una clara demostración en la controversia sobre la proyección retinohipotalámica. En el mismo trabajo los autores reportan proyecciones de retina a regiones no visuales y no hipotalámicas, como serían corteza piriforme, hipotálamo periventricular. Lo anterior indica que quizás el circuito de regulación de los ciclos neuroendócrinos requiere de la activación de más de una estructura. Estas vías no han sido demostradas en la rata.

En el presente trabajo se estudió la relación mutua que guardan entre sí dos estructuras _ el LC y el NSQ_ que al parecer mantienen semejanza funcional considerando que están involucradas de una u otra forma en el control de las funciones cíclicas y neuroendócrinas. Así tenemos que la importancia del NSQ en el control de los ritmos circádicos se ha enfatizado por diversos autores (Rusek y Zucker, en 1979). Por ejemplo, la lesión del NSQ eliminó completamente la liberación fásica de hormona luteinizante (LH) en las ratas (Gray et al., 1978) con diferentes tratamientos hormonales.

Existen evidencias de que el NSQ sincroniza los ritmos de secreción de la hormona del crecimiento con los periodos de luz y oscuridad (Willoughby y Martin, en 1978).

La lesión del NSQ ocasiona alteraciones en las neuronas responsables de la liberación de gonadotropinas (Ronkkinen, 1986).

En cuanto al LC se tiene que la lesión del mismo produjo

supresión transitoria del ciclo estral de la rata hembra así como del estro persistente inducido experimentalmente (Solano-Flores et al., 1981, 1986, 1987). Así como que la actividad del LC está involucrada en la inhibición de la liberación de hormonas gonadotropicas (Dotti Talehiznik en 1984a, 1984b).

El NSQ se caracteriza por mantener una actividad ciclica independientemente que este haya sido aislado del resto del cerebro (Inouye y Kawamura, 1979, 1982). Además, en contraste con otras estructuras cerebrales, la actividad metabólica detectable mediante el consumo de glucosa, es una función tanto de la hora del día como del periodo luz oscuridad (Schwartz y Gainer, 1977).

Finalmente, se ha demostrado que las catecolaminas hipotalámicas juegan un papel importante papel en la regulación de la secreción de gonadotropinas de la pituitaria anterior así como de la conducta sexual (Nock, 1979; Sawyer, 1979). Más específicamente, las concentraciones de adrenalina cambian dramáticamente en la región preóptica medial y en el hipotálamo basal en momentos específicos durante el periodo periovulatorio. Por otra parte, una comparación de los cambios sufridos en los niveles de adrenalina con los de gonadotropinas a lo largo del ciclo estral, sugiere un posible papel de ésta catecolamina sobre los mecanismos relacionados con la secreción de gonadotropinas (Sheaves, 1985).

En el NSQ se observó un incremento significativo en la

noradrenalina (NA), entre la mañana y la tarde del proestro en la rata hembra (Selmanoff, 1976).

El NSQ mantiene un ritmo durante el día en su contenido de NE, con un valor máximo al iniciarse el día (Semba, 1984).

En el LC se encontró un ritmo en la actividad de la monoaminooxidasa con el valor máximo durante el periodo de oscuridad (Chevillard et al., 1981).

Así pues tenemos, que ambos núcleos presentan actividad cíclica a lo largo del ciclo luz-oscuridad, que la alteración de sus funciones o de su integridad anatómica a través de lesiones ocasiona trastornos en el ciclo estral o en los eventos neuroendócrinos participantes en el ciclo estral, y que ambos núcleos presentan oscilaciones a lo largo del ciclo estral. En el NSQ por ejemplo, existe correlación entre los cambios en los niveles de actividad multiunitaria del NSQ y los estadios del ciclo estral, así esta actividad del NSQ es baja durante el diestro, se incrementa durante la noche del proestro y alcanza los máximos valores durante el estro (Pardey-Borrero y Timiras, 1985).

La variación de actividades cíclicas durante el ciclo estral ya se ha demostrado. Por ejemplo mediante registro electroencefalográfico se mostró que durante el proestro la rata hembra presenta un incremento en su estado de vigilia nocturna (Cobreen, 1968).

Por otro lado el LC presenta ciertas características

(Cobreen, 1968).

Por otro lado el LC presenta ciertas características oscilatorias a lo largo del día. Azi, Chu, y Bloom, en 1973, presentaron evidencias que indican una correlación directa entre la actividad espontánea de neuronas del LC y la ocurrencia espontánea de las etapas del sueño. Ellos registraron la actividad espontánea de neuronas del LC de gatos durante estados de sueño y vigilia. Las neuronas descargaban lentamente durante los periodos de adormilamiento (4 a 5 espigas por segundos) y del sueño de ondas lentas (4.2 espigas por segundo); descargando con salvas rápidas asociadas a los MOR durante el sueño paradójico (10 espigas por segundo). Eubenik y Monnier, en 1972, midieron el diámetro nuclear de las células del LC de conejos en condiciones de sueño, vigilia, y estrés. Durante el sueño de actividad delta el tamaño nuclear fué significativamente menor que cuando el animal estaba despierto. Quince minutos después de haber provocado estrés mediante hemorragia se pudieron observar células cuyo tamaño nuclear aumentó. Los mayores tamaños nucleares se observaron durante estados de franca atención. Con estos resultados, sugirieron que el LC desarrolla un papel en el despertar, y podríamos agregar, como vimos con Rasmussen et al., en 1985 y 1986, que este papel tiene que ver con la respuesta adaptativa al medio ambiente, con los retos psicológicos y con la ansiedad.

Con lo anterior, surge la idea, de que la posible función del LC a través de su influencia sobre el NSQ, es determinar si alguna conducta, concentración hormonal y/o actividad metabólica, sometidas éstas a ciclicidades dependientes del NSQ, deben incrementarse o decrementarse, teniendo en cuenta el tipo de estimulación- señal que recibe el LC y que indican tanto el estado interno del organismo como el estado, propicio o adverso, del medio ambiente en que se encuentra.

Dicho de otra manera, el NSQ le ofrece al LC, ciclos, por ejemplo el de luz-obscuridad, con el que están oscilando las conductas de ingesta, sexual, la concentración de ACTH, de hormona del crecimiento, el metabolismo de tal substancia, etc. Con ésta información, el LC decide, en función de situaciones internas y externas al organismo, de las cuales le está llegando información (Foote et al., 1983; Walinder et al., 1983), cuando, tal conducta, o concentración de tal substancia, o el metabolismo de ellas, se incrementan o decrementan. Esto probablemente ocurra además, cuando las mencionadas situaciones internas o externas, se hayan apartado de un rango de normalidad, y el organismo, en éste caso del mamífero rata, se encuentra más exigido. Ya que como sabemos, el control de la función normal, está a cargo de los sistemas endócrino y nervioso. Es probable entonces, que la asociación entre éstos dos núcleos, el NSQ y el LC, corresponda a la interacción de subsistemas más especializados de control, que operarian sobre todo en

situaciones sorprendidas y de alarma; para la preservación de la vida y de la relación entre los organismos.

Finalmente, un substrato anatómico alternativo que explicaría el potencial provocado en el NSQ por estimulación del LC, incluiría neuronas del área dorsal compacta del LC que contienen NPY (Rogawski y Agajanian, 1982; Gustafson, 1986) y que proyectan al núcleo geniculado lateral parte dorsal (NSLd). De allí interneuronas del NGL, llevarían el impulso nervioso a la parte ventral del citado núcleo, desde donde neuronas conteniendo el mismo neuropéptido llegan al NSQ ventral (Ribak y Peters, 1975; Swanson et al., 1974). También podría existir una vía directa desde el LC hacia las regiones hipotalámicas que rodean al NSQ (Gustafson 1986).

Con respecto a la señal eléctrica del potencial provocado originado en el LC; probablemente viaje a través de axones de neuronas localizadas en la región dorsal del NSQ (Sofroniew y Weindl, 1978, 1980) a través de proyecciones de neuronas parvocelulares vasopresinérgicas, cruzando hipotálamo posterior, sustancia gris mesencefálica, y desde allí a LC.

IV. CONCLUSIONES.

1. El presente trabajo presenta evidencias que apoyan la existencia de una comunicación bidireccional entre el NSQ y el LC.
2. Parece ser que existe un área específica en el NSQ hacia la cual proyecta el LC.
3. Parece ser que existe un área específica en el LC que es activada por la estimulación del NSQ.
4. Parece ser que la estimulación del NSQ provoca actividad transináptica en el LC.
5. Parece ser que existe un área específica en el NSQ que es activada por la estimulación del LC.
6. Parece ser que existe un área específica en el LC hacia la cual proyecta el NSQ.
7. Parece ser que la estimulación del LC provoca actividad trasináptica en el NSQ.
8. La estimulación eléctrica del LC produce cambios en la frecuencia de descarga de neuronas del NSQ.

Aghajanian, G.K., Bloom, F.E. and Sheard, M.H. Electron microscopy of degeneration within the serotonin pathway of rat brain. *Brain Res.* 13:266-273, 1969.

Albers, H.E., Lydic, R., Gander, F.H. and Moore-Ede, M.C. Gradual decay of circadian drinking organization following lesions of the suprachiasmatic nuclei in primates. *Neuroscience Letters*, 27:119-124, 1981.

Allen, Y.S., T.E. Adrian, J.M. Allen, K. Tatamoto, T.J. Crow, S.R. Blom, and J.M. Polak (1983) Neuropeptide Y distribution in the rat brain. *Science* 221:877-879.

Altezkark, G.M., T.J. Crow, and A.P. Greenway. Impaired learning and decreased cortical norepinephrine after bilateral locus coeruleus lesions. *Science* 181:682-684, 1973.

Amaral, D.G., and Sinnamon, H.M., The locus coeruleus: Neurobiology of a central noradrenergic nucleus. *Progress in neurobiology*, Vol. 9:147-196, 1977.

Anden, N.E., Dahlstrom, A., Fuxe, K., Larsson, K., Olson, L. and Ungerstedt, U. Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. *Acta Physiol. scand.* 67:313-326, 1968.

Andrade, R., and Aghajanian, G.K., Intrinsic regulation of locus coeruleus neurons: electrophysiological evidence indicating a predominant role for autoinhibition. *Brain Research* 310:401-406, 1984.

Anston-Jones, G., S.L. Foote, and F.E. Bloom. Anatomy and physiology of locus coeruleus neurons: functional implications. In: M. Ziegler and C.R. Lake (eds): *Frontiers of clinical neuroscience*, vol. 2, Norepinephrine. Baltimore: Williams and Wilkins, pp. 92-116, 1984.

Berk, M.L. and Finkelstein, J.A. Afferent projections to the preoptic area and hypothalamic regions in the rat brain. *Neuroscience* Vol. 6 No. 8, 1601-1624, 1981.

Bishop, G.H. and P. Heinbecker. A functional analysis of the cervical sympathetic nerve supply to the eye. *Am. J. Physiol.* 100:519-532, 1932.

Broadwell, R.D. and D.M. Jacobowitz. Olfactory relationships of the telencephalon and diencephalon in the rabbit. III The ipsilateral centrifugal fibers to the olfactory bulb and retrobulbar formations. *J. Comp. Neur.* 170:321-346, 1976.

Brown-Grant, K. and Raisman, G. Abnormalities in reproductive function associated with the destruction of the suprachiasmatic nuclei in female rats. Proc. R. Soc. Lond. B. 198:279-296. 1977.

Bubenik, G. and Monnier, M. Nuclear size variations in cells of the locus coeruleus during sleep, arousal and stress. Experimental Neurology. 35:1-12. 1972.

Caffe, A.R.C., Buijs, van L.R.M., Vries, G.J.de. and Geffard, M. Coexistence of vasopressin, neurophysin and noradrenaline immunoreactivity medium-sized cells of the locus coeruleus and subcoeruleus in the rat. Brain Research. 338:160-164. 1985.

Cajal, S. Ramon y . Histologie du Systeme Nerveux de l'homme et des vertebres. Vol III. Paris: A. Maloine. 1911.

Cedarbaum, J.M. and Aghajanian G.K. Afferent projections to the rat locus coeruleus as determined by a retrograde tracing technique. J. Comp. Neurol. 178:1-16. 1978.

Cespuglio, R., Gomez, M.E., Faradji, H. and Jouvet, M. Alterations in the sleep-waking cycle induced by cooling of the locus coeruleus area. Electroencephalography and clinical neurophysiology. 54:554-570. 1982.

Chang, H.T., Interaction of evoked cortical potentials. J. Neurophysiol. 16:133-144. 1953.

Chang, H.T., The evoked potentials. In J. Field, H.W. Magoun and V.E. Hall (Editors). Handbook of Physiology, Sec. I. Amer. Physiol. Soc., Washington, I:299-313, 1959.

Chang, H-T. Dendritic potential of cortical neurons produced by direct electrical stimulation of the cerebral cortex. 1951.

Charnay, Y., Leger, L., Dray, F., Berod, A., Jouvet, M., Pujol, J.F. and Dubois, Evidence for the presence of enkephalin in catecholaminergic neurones of cat locus coeruleus. Neuroscience Letters, 30: 147-151. 1982.

Chiba, T. and Murata, Y. Afferent and efferent connections of the medial preoptic area in the rat: A WGA-HRP study. Brain Research Bull. Vol. 14:261-272. 1985.

Cintra, L., Diaz-Cintra, S., Kemper T., and Morgane P.J., Nucleus locus coeruleus: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. Brain Research, 247:17-28. 1982.

Clavier, R.M. Afferent projections to the self-stimulation regions of the dorsal pons, including the locus coeruleus, in the rat as demonstrated by the horseradish peroxidase technique. Brain Res. Bull. 4:497-504, 1979. Chemistry & Behavior 20:613-618. 1984.

Cohen, M. and S.C. Wang. Respiratory neural activity in pons of cat. *J. Neurophysiol.* 22:33-50, 1959.

Dahlstrom, A., and K. Fuxe. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 247, 64:1-36, 1964.

De Quidt, M.E., and P.C. Emson. Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central nervous system-I. Radioimmunoassay and chromatographic characterisation. *Neuroscience* 18:527-543, 1986a.

De Quidt, M.E., and P.C. Emson. Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central nervous system-II. Immunohistochemical analysis. *Neuroscience* 18:545-618, 1986b.

Deutch, A.Y., Goldstein, M. and Roth, R. Activation of the locus coeruleus induced by selective stimulation of the ventral tegmental area. *Brain Research.* 363:307-314, 1986.

Dillier, N., J. Laszlo, B. Muller, W.P. Koella and H.R. Olpe. Activation of an inhibitory noradrenergic pathway projecting from the locus coeruleus to the cingulate cortex of the rat. *Brain Res.* 154:61-68, 1978.

Eastman C.I., Muistiberger, R.E. and Rechtschaffen, Allan. Suprachiasmatic nuclei lesions eliminate circadian temperature and sleep rhythms in the rat. *Physiology & Behavior*, Vol. 32:357-368, 1984.

Eccles, J.C. Interpretation of action potentials evoked in the cerebral cortex. *E.E.G. Clin. Neurophysiol.* 3:449-464, 1951.

Elam, M., Svensson, T.H., and Thoren, P., Locus coeruleus neurons and sympathetic nerves: activation by cutaneous sensory afferents. *Brain Research.* 399:254-261, (1986).

Everitt, B.J., T. Hokfelt, L. Terenius, K. Tatemoto, V. Mutt, and M. Goldstein. Differential coexistence of neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity with catecholamines in the central nervous system of the rat. *Neuroscience* 11:443-462.

File, S.E., Deakin, J.F.W., Longden, A. and Crow, T.J., An investigation of the role of the locus coeruleus in anxiety and agonistic behaviour. *Brain Research* 169:411-420, 1978.

Foote, S.L., Bloom F.E., and Aston-Jones, G. Nucleus Locus Coeruleus: New evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiological Reviews* Vol. 63 No. 3 (844-914), 1983.

Fuxe, K., Hamberger, B. and Hokfelt, T. Distribution of noradrenaline nerve terminals in cortical areas of the rat. *Brain Research* 8:125-131, 1968.

Gerstein, G.L. and N.Y. Kiang. An approach to the quantitative analysis of electrophysiological data from single neurons. *Biophysic. J.* 1:15-28, 1960.

Groos, G., Mason, R. and Meijer, J. Electrical and pharmacological properties of the suprachiasmatic nuclei. *Federation Proc.* 42:2790-2795, 1983.

Groves, P.M. and Wilson, C. Monoaminergic presynaptic axons and dendrites in rat locus coeruleus seen in reconstructions of serial sections. *The journal of comparative neurology.* 193:853-862, 1980.

Groves, P.M. and Wilson C.J. Fine structure of rat locus coeruleus. *The journal of comparative neurology.* 193:841-852, 1980.

Grzanna, R., and M.E. Molliver. Cytoarchitecture and dendritic morphology of central noradrenergic neurons. In: J.A. Hobson and M.A.B. Brazier (eds.): *The reticular formation Revisited*. New York: Raven Press, pp.83-97, 1980b.

Grzanna, R., and M.E. Molliver. The locus coeruleus in the rat: An immunohistochemical delineation. *Neuroscience* 5:21-41, 1980a.

Guevara-Aguilar, R., Solano-Flores, L.P., Donatti-Albarran, O.A. and Aguilar-Baturoni, H.U. Differential projections from locus coeruleus to olfactory bulb and olfactory tubercle: An HRP study. *Brain Res. Bull.* Vol. 8:711-719, 1982.

Hendrickson, A.E., N. Wagoner, and W.M. Cowan. An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. *Z. Zellforsch* 135:1-26, 1972.

Hoffer, B.J., G.R. Siggins, A.P. Oliver and F.E. Bloom. Activation of the pathway from locus coeruleus to rat cerebellar Purkinje neurons: pharmacological evidence of noradrenergic central inhibition. *J. Pharmac. and Exptl. Therap.* 184:553-569, 1973.

Holets, V.R., T. Hokfelt, L. Terenius, and M. Goldstein. Differential projection of locus coeruleus containing tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y and/or galanin. *Proc. Soc. Neurosci.* 11:145 (Abstract) 1985.

Hunt, S.P., P.C. Emson, R. Gilbert, M. Goldstein, and J.R. Kimmel. Presence of avian pancreatic polypeptide-like immunoreactivity in catecholamine and methionine enkephalin containing neurons within the central nervous system. *Neurosci. Lett.* 21:125-130, 1981.

Iijima, K. and Ogawa, T. An HRP study on cell types and their regional topography within the locus coeruleus innervating the supraoptic nucleus of the rat. *Acta Histochem.* 67:127-138. 1980.

Inouye, S.I. and Kawamura, H. Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 76 No. 11:5962-5966. 1979.

Inouye, S.T. and Kawamura, H. Characteristic of a circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Comparative Physiology.* 146:153-160. 1982.

Jacobs, B.L. Single unit activity of locus coeruleus neurons in behaving animals. *Progress in Neurobiology.* Vol. 27:183-194. 1986.

Jones, B. E. and Score, R. Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat II autoradiographic study. *Brain Research* 127:23-53. 1977.

Jones, B.E. and Wang L.Z. The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anterograde and retrograde axonal transport in the rat. *The journal of comparative neurology* 242:56-92. 1985.

Jones, B.E., Halaris, A. E., McIlhenny, M. and Moore, R.Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. I Axonal transport in central noradrenaline neurons. *Brain Research.* 127:1-21. 1977.

Kafka, M.S., Winz-Justice, A., Naber, D., Moore, R.Y. and Benedito, M.A. Circadian rhythms in rat brain neurotransmitter receptors. *Federation Proc.* 42:2796-2801. 1983.

Kawamura, H., Sunn, C.G. and Frohlich L.B. Cardiovascular alteration by nucleus locus coeruleus in spontaneously hypertensive rat. *Brain Research.* 140:137-147. 1978.

Korf, J., Aghajanian, G.K., and Roth R. Increased turnover of norepinephrine in the rat cerebral cortex during stress: role of the locus coeruleus. *Neuropharmacology.* 12:939-938. 1973.

Kucera, P. and Favrod F. Suprachiasmatic nucleus projection to mesencephalic central gray in the woodmouse (*Apodemus sylvaticus* L.). *Neuroscience* Vol. 4:1705-1715. 1979.

Legan, L. and Hernandez-Nicolas, M.L. The rat locus coeruleus. *Anat. Embryol.* 159:161-198. 1980.

Lindvall, O. and G. Bjorklund. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid method. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 412:1-48. 1974.

- Iijima, K. and Ogawa, T. An HRP study on cell types and their regional topography within the locus coeruleus innervating the supraoptic nucleus of the rat. *Acta histochem.* 67:127-138. 1980.
- Inouye, S.I. and Kawamura, H., Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 76 No. 11:5962-5966. 1979.
- Inouye, S.T. and Kawamura, H. Characteristic of a circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Comparative Physiology.* 146:153-160. 1982.
- Jacobs, B.L. Single unit activity of locus coeruleus neurons in behaving animals. *Progress in Neurobiology.* Vol. 27:183-194. 1986.
- Jones, B. E. and Moore, R. Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat II autoradiographic study. *Brain Research* 127:23-53. 1977.
- Jones, B.E. and Yang T.Z. The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anterograde and retrograde axonal transport in the rat. *The journal of comparative neurology* 242:56-92. 1985.
- Jones, B.E., Halaris, A. E., McIlhenny, M. and Moore, R.Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. I Axonal transport in central noradrenergic neurons. *Brain Research,* 127:1-21. 1977.
- Kafka, M.S., Wirz-Justice, A., Naber, D., Moore, R.Y. and Benedito, M.A. Circadian rhythms in rat brain neurotransmitter receptors. *Federation Proc.* 42:2796-2801. 1983.
- Kawamura, H., Gunn, C.G. and Frohlich E.D. Cardiovascular alteration by nucleus locus coeruleus in spontaneously hypertensive rat. *Brain Research,* 140:137-147. 1978.
- Korf, J., Aghajanian, G.K., and Roth R., Increased turnover of norepinephrine in the rat cerebral cortex during stress: role of the locus coeruleus. *Neuropharmacology.* 12:933-938. 1973.
- Kucera, P. and Favrod P. Suprachiasmatic nucleus projection to mesencephalic central gray in the woodmouse (*Apodemus sylvaticus* L.). *Neuroscience* Vol. 4:1705-1715. 1979.
- Leger, L., and Hernandez-Nicolas, M.L., The cat locus coeruleus. *Anat. Embrio.* 159:181-198. 1980.
- Lindvall, O., and A. Bjorklund. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid method. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 412:1-48. 1974.

Loizou, L.A., Projections of the nucleus locus coeruleus in the albino rat. *Brain Research* 15:563-566. 1969.

Loren, I., J. Altmets, R. Hakanson, and F. Sundler. Immunoreactive pancreatic polypeptide (PP) occurs in the central and peripheral nervous system: Preliminary immunocytochemical observations. *Cell Tissue Res.* 200:179-186.

Lydic, R., Albers, H.E., Tepper, B. and Moore-Ede, M.C. The journal of comparative neurology. Three-dimensional structure of the mammalian suprachiasmatic nuclei: A comparative study of five species. *The Journal of comparative neurology* 204:225-237. 1982

Mason, S.T., and H.C. Fibiger. Regional topography within noradrenergic locus coeruleus as revealed by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 187:703-724. 1979.

Maurizi, C.P. Is Reye's syndrome a disorder of the locus coeruleus? *Medical hypotheses* 16:355-359. 1985.

McBride, R.L. and Sutin, J. Projections of the locus coeruleus and adjacent pontine tegmentum in the cat. *J. Comp. Neurol.* 165:265-284. 1976.

Mizuno, N., Nakamura, Y., Direct hypothalamic projection to the locus coeruleus. *Brain Research*, 19:160-163. 1970.

Moore, R. Y. and Eichler, V.B. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 42:201-206. 1972.

Moore, R. Y. and Lenn, N.J. A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.* 146:1-74. 1972.

Moore, R.Y. Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: the suprachiasmatic hypothalamic nucleus. *Federation Proc.* 42: 2783-2789. 1983.

Moore, R.Y. Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Research*. 49:403-409. 1973.

Mosko, S. S. and Moore, R. Y. Neonatal ablation of the suprachiasmatic nucleus. Effects on the development of the pituitary-gonadal axis in the female rat. *Neuroendocrinology*, 26:350-361. 1979.

Mosko, S. and Moore, R. Neonatal ablation of the suprachiasmatic nucleus. Effects on the development of the pituitary-gonadal axis in the female rat. *Neuroendocrinology* 29:250-261. 1979.

Nakamura, S. and Iwama, K., Antidromic activation of the rat locus coeruleus neurons from hippocampus, cerebral and cerebellar cortices. Brain Research, 99: 372-376. 1975.

Nishino, H., Koizumi, K. and McC Brooks, C. The role of suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus in the production of circadian rhythm. Brain Research, 112:45-59. 1976.

Nygren, L.G. and Olson, L. A new major projection from locus coeruleus: The main source of noradrenergic nerve terminals in the ventral and dorsal columns of the spinal cord. Brain Research, 132:85-93. 1977.

Olpe, H.R. and Steinmann, M.W. The effect of vincamine, hydergine and piracetam on the firing rate of locus coeruleus neurons. J. Neural Transmission 55:101-109. 1982.

Olpe, H.R., Glatt, A., Lazzlo, J. and Schellenberg, A. Some Electrophysiological and pharmacological properties of the cortical, noradrenergic projection of the locus coeruleus in the rat. Brain Research, 186:9-19. 1980.

Olpe, H.R., Glatt, A., Lazzlo, J. and Schellenberg, A. Some electrophysiological and pharmacological properties of the cortical, noradrenergic projection on the locus coeruleus in the rat. Brain Research, 186:9-19. 1980.

Olpe, H.R. and Steinmann, M.W. Ape-related decline in the activity of noradrenergic neurons of the rat locus coeruleus. Brain Research, 251:174-176. 1982.

Ozumi, Y., Oishi, R., Fujiwara, H. and Takaori, S. Hyperdipsia induced by bilateral destruction of the locus coeruleus in rats. Brain Research, 86:419-427. 1975.

Pickard, G.E. Bifurcated axons of retinal ganglion cells terminate in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus and the intergeniculate leaflet of the thalamus. Neuroscience Letters, 55:211-217. 1985.

Pickard, G.E. The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. The journal of comparative neurology, 211:65-83. 1982.

Pickard, Gary, E. Morphological characteristics of retinal ganglion cells projectin to the suprachiasmatic nucleus: a horseradish peroxidase study. Brain Research, 183:458-465. 1980.

Pickard, G.E. and Silverman, A.J. Direct retinal projections to the hypothalamus, piriform cortex and accessory optic nuclei in the golden hamster as demonstrated by a sensitive anterograde horseradichs peroxidase technique. The J. of Comp. N. 196:155-172. 1981.

Pucilowski, O., Kozak, W. and Valzelli L., Effect of 6-OHDA injected into the locus coeruleus on apomorphine-induced aggression. *Pharmacology biochemistry and behavior*. Vol. 24:773-775, 1986.

Raisman, G. and Brown-Grant, K. The suprachiasmatic syndrome: endocrine and behavioural abnormalities following lesions of the suprachiasmatic nuclei in the female rat. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 198:297-314, 1977.

Ramirez, G.A. and Wang, R. Locus coeruleus norepinephrine-containing neurons: effects produced by acute and subchronic treatment with antipsychotic drugs and amphetamine.

Rasmussen, K., Morilak, D.A. and Jacobs, B. Single Unit Activity of Coeruleus Neurons in the Freely Moving Cat. I. During Naturalistic Behaviors and in Response to Simple and Complex Stimuli. *Brain Res.* 371:324-334, 1986.

Redmond, D. E., Jr. Huang, Y. H., Snyder, D. R., Maas, J. W. and Baulu, J. Hyperphagia and hyperdiptia after locus coeruleus lesions in the stump-tailed monkey. *Life Sciences* Vol. 20:1619-1628, 1977.

Reppert, S. M. and Schwartz, W. J. Maternal suprachiasmatic nuclei are necessary for maternal coordination of the developing circadian system. *The journal of Neuroscience*, 6(9):2724-2729, 1986.

Rodieck, R.W., Kiang, N.Y. and Gerstein, G.L. Some quantitative methods for the study of spontaneous activity of single neurons. *Biophysical Journal*. 2:351-368, 1962.

Russell, G.V., The nucleus locus coeruleus dorsolateralis tegmenti. *Texas reports on biology and medicine*, VI:939-988, 1975.

Sakai, K., Touret, M., Salvetti, D., Leger, L. and Jouvet, M. Afferent projections to the cat locus coeruleus as visualized by the horseradish peroxidase technique. *Brain Research*, 119:21-41, 1972.

Sasa, M. and Takaori, S. Influence of the locus coeruleus on transmission in the spinal trigeminal nucleus neurons. *Brain Research*, 55:203-208, 1973.

Schwartz, S. M., Effects of constant bright illumination on reproductive processes in the female rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, Vol. 6:391-406, 1982.

Schwartz, S.M., Effects of constant bright illumination on reproductive processes in the female rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 6:391-406, 1982.

Sekiya, S., Tanaka, M., Hayashi, S. and Oyanagi, S. Light and electron microscopic studies of intracytoplasmic acidophilic granules in the human locus ceruleus and substantia nigra. *Acta Neuropathol. (Berl)* 56:78-80. 1982.

Semba, J., Toru, M. and Mataga, N. Twenty-four hour rhythms of norepinephrine and serotonin in nucleus suprachiasmaticus, raphe nuclei, and locus coeruleus in the rat. *Sleep*, 7(3):211-218. 1984.

Sharma, V.K., Harik, S.I., Ganapathi, M., Busto, R. and Banerjee, S.P. Locus Coeruleus lesion and chronic reserpine treatment: effect on adrenergic and cholinergic receptors in cerebral cortex and hippocampus. *Experimental Neurology*, 65:685-690. 1979.

Shibata, S., Yuh Liou, S. and Ueki, S. Development of the circadian rhythm of neuronal activity in suprachiasmatic nucleus of rat hypothalamic slices. *Neuroscience Letters*, 43:231-234. 1983.

Shimizu, N., Ohnishi, S., Tohyama, M. and Maeda, T. Demonstration by degeneration silver method of the ascending projection from the locus coeruleus. *Exp. Brain Res.* Vol. 20:181-192. 1974.

Shimizu, N. and Imamoto Kikuko. Fine structure of the Locus Coeruleus in the rat. *Arch. histol. jap.* Vol. 31 No. 3/4 (229-246), 1970.

Sofroniew, M.V. and Weindi, A. Neuroanatomical organization and connections of the suprachiasmatic nucleus. in B. Russak: *Physiological Models of the rodent circadian system*, 75-252. 1980.

Sofroniew, M.V. and Windi Adolf. Projections from parvocellular vasopressin and neurophysin-containing neurons of the suprachiasmatic nucleus. *Am. J. Anat.* 153:391-430. 1978.

Solano-Flores, L.P., Aguilar-Baturoni, H.U. and Guevara-Aguilar, R. Olfactory tubercle's different neural elements activated by locus coeruleus. *Brain Research Bull.* Vol. 7:655-660. 1981.

Solano-Flores, L.P., Aguilar-Baturoni, H.U. and Guevara-Aguilar, R. Transient cessation of female rat sexual cycle after electrolytic damage of locus coeruleus. *Brain Research Bull.* Vol. 8:703-709. 1982.

Solano-Flores, L.P., Aguilar-Baturoni, H.U. and Guevara-Aguilar, Rosalinda. Locus Coeruleus influences upon the olfactory tubercle. *Brain Research Bulletin.* Vol. 5:383-389. 1980.

Solano-Flores, L.P., Aguilar-Baturoni, H.U. and Guevara-Aguilar, Rosalinda. Transient cessation of female rat sexual cycle after electrolytic damage of locus coeruleus. Brain Research Bull. Vol. 8:703-709. 1982.

Solano-Flores, L.P., Aguilar-Baturoni, H.U. and Guevara-Aguilar, R., Olfactory Tubercle's different neural elements activated by locus coeruleus. Brain Research Bulletin, Vol.7:635-660. 1981.

Solano-Flores, L.P., Donatti-Albarrañ, O.A. and Guevara-Aguilar, R. Effect of locus coeruleus and periventricular gray substance lesions on bright light-induced persistent estrous. Brain Research Bull. 17:759-766. 1986.

Solano-Flores, L.P., Donatti-Albarrañ, O.A. and Guevara-Aguilar, R. Effect of Locus Coeruleus and periventricular gray substance lesions on suprachiasmatic damage-induced persistent estrous. Brain Research Bull. 18:429-435. 1987.

Stephan, F.K. and Zucker, I. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. Proc.Nat.Acad.Sci.USA. Vol 69, No.6:1583-1586. 1972.

Stephan, F.K., Berkley, K.J. and Moss, R.L. Efferent connections of the rat suprachiasmatic nucleus. Neuroscience Vol. 6:No.12, 2625-2641. 1981.

Stopa, E. G., King, J.C. and Schoene, W.C. Human brain contains vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide neuronal subpopulations in the suprachiasmatic region. Brain Research. 297:159-163. 1984.

Strahlendorf, H.K. and Strahlendorf, J.C. Ethanol suppression of locus coeruleus neurons: relevancy to the fetal alcohol syndrome. Neurobehavioral toxicology and teratology. Vol 5:221-224. 1983.

Swaab, D.F., Fliers, E. and Partiman, T.S. The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senile dementia. Brain Research 342: 37-44. 1985.

Swanson, L.W. and Hartman, B.K. The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine- β -hydroxylase as a marker. J.Comp.Neurol.163:467-506. 1975.

Swanson, L.W., The locus coeruleus: A cytoarchitectonic, Golgi and immunohistochemical study in the albino rat. Brain Research, 110:39-56. 1976.

Touret, M., Valatx, J.L. and Jouvet, M., The locus coeruleus: a quantitative and genetic study in mice. *Brain Research*. 250:353-357. 1982.

Towe, A. L., On the nature of the primary evoked response. *Experimental Neurology* 15:113-139. 1966.

Ueda, S., Kawata, M. and Sano, Y. Identification of neuropeptide y immunoreactivity in the suprachiasmatic nucleus and the lateral geniculate nucleus of some mammals. *Neuroscience Letters*. 68:2-10. 1986.

Ungerstedt, U., Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiologica Scandinavica*. Suppl. 367:1-29. 1971.

Van den Pol, A.N., Gamma-aminobutyrate, gastrin releasing peptide, serotonin, somatostatin and vasopressin ultrastructural immunocytochemical localization in presynaptic axons in the suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience* Vol.12No.3643-659. 1986.

Van der Pol A.N., The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: intrinsic anatomy. *The journal of comparative neurology* 191:661-702. 1980.

Velley, L., Nassif, S., Kempf, E. and Cardo, B. Enhancement of learning four weeks after stimulation of the nucleus locus coeruleus in the rat: differential effects of dorsal noradrenergic Bundle lesions of the locus coer. *proper Brain Research*, 265 (273-282), 1982.

Verleye, M. and Bernet, F. A Comparative Study of the Behavioral Effects of the Locus Coeruleus and the Dorsal Noradrenergic Bundle Lesions in the Rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 21:357-363, 1984.

Ward, D.G. and Gunn, C.G. Locus coeruleus complex: differential modulation of depressor mechanisms. *Brain Research*, 107:407-411, 1976.

Watabe, K. Mode of neuronal interaction in rat locus coeruleus. *Arch. Ital. Biol.* 118:303-329. 1980.

Watabe, K. and Satoh, T. Mechanism underlying prolonged inhibition of rat locus coeruleus neurons following anti and orthodromic activation. *Brain Research*, 165:343-347. 1979.

Watabe, K., Nakai, K. and Kasamatsu, T. Visual afferents to norepinephrine-containing neurons in cat locus coeruleus. *Exp. Brain Res.* 49:66-82. 1982.

Watabe, K. and Satoh, T. Cross-correlation of neuronal activities in bilateral nuclei of locus coeruleus. *Brain Research*, 199(231-234), 1980.

Waterhouse, B.D., Lin, C.S., Burne, R.A. and Woodward, D.J. The distribution of neocortical projection neurons in the locus coeruleus. *The journal of comparative neurology* 217:418-434, 1981.

Williams, J. T. Henderson, G. and North, R. A. Characterization of alpha2 Adrenoreceptors which increase potassium conductance in rat locus coeruleus neurons. *Neuroscience*, 14(1):95-101, 1985.

Williams, J.T. and North, R. A. Opiate-receptor interactions on single locus coeruleus neurons. *Molecular pharmacology*, 26:489-497, 1984.

Williams, J.H. Miall-Allen, V.M., Klinowski, M., Azmitia, E.C. Effects of microinjection of 5,7-dihydroxytryptamine in the suprachiasmatic nuclei of the rat on serotonin reuptake and the circadian variation of corticosterone levels. *Neuroendoc.* 36:431-435, 1985.

Williams, J.T., North, R.A., Shefner, S.A., Nishi, S. and Egan, T.M. Membrane properties of rat locus coeruleus neurons. *Neuroscience* Vol.13:No.1. 137-156, 1984.

Willoughby, J.O. and Martin, J. The suprachiasmatic nucleus synchronizes growth hormone secretory rhythms with the light-dark cycle. *Brain Research*, 151:413-417, 1978.

Yamamoto, H., Naghai, K. and Nakagawa, H. Additional evidence that the suprachiasmatic nucleus is the center for regulation of insulin secretion and glucose homeostasis. *Brain Research*, 304:237-241, 1984.