

# Actividades neuronales en los núcleos colinérgicos del tronco encefálico relacionadas con el tónico

## Procesos de activación en los sistemas talamocorticales

M. Steriade, S. Datta, D. Paré, G. Oakson y R. Curró Dossi

Laboratorio de Neurofisiología, Facultad de Medicina, Universidad Laval, Québec, Canadá G1K 7P4

Este estudio se realizó para examinar la hipótesis de que las neuronas de proyección talámica de los núcleos colinérgicos mesopontinos muestran patrones de actividad compatibles con su papel en la inducción y el mantenimiento de los procesos de activación en los sistemas talamocorticales durante los estados de vigilia (W) y sueño de movimientos oculares rápidos (REM) asociados con la desincronización del electroencefalograma (EEG). Se registró extracelularmente una muestra de 780 neuronas localizadas en el área peribraquial (PB) del núcleo tegmental pedunculopontino y en el núcleo tegmental laterodorsal (LDT) en gatos no anestesiados y con implantes crónicos. De esos neuronas, 82 fueron invadidos antidrómicamente desde núcleos talámicos mediales, intralaminares y laterales; 570 fueron impulsados ortodrómicamente a latencias cortas desde varios sitios talámicos; y 45 de estos últimos elementos también forman parte del grupo de 82 células, ya que fueron activados tanto antidrómicamente como sinápticamente desde el tálamo.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias de disparo en las muestras neuronales PB y LDT. Los análisis de frecuencia en 2 grupos distintos de neuronas PB/LDT, con frecuencias de descarga rápidas ( $> 10$  Hz) y lentas ( $< 2$  Hz) en W, indicaron que

(1) el grupo de células de descarga rápida presentó tasas de disparo más elevadas en el sueño W y REM en comparación con el sueño sincronizado con EEG (S), siendo significativas las diferencias entre todos los estados ( $p < 0,0005$ ); (2) el grupo de células de descarga lenta aumentó las tasas de disparo de W a S y posteriormente a sueño REM, con diferencias significativas entre W y S ( $p < 0,01$ ), así entre W o S y sueño REM ( $p < 0,0005$ ).

Los histogramas de intervalos entre espigas de las neuronas PB y LDT mostraron que el 75% de ellas tienen patrones de disparo tónico sin prácticamente ráfagas de espigas de alta frecuencia en ningún estado del ciclo vigilia-sueño. Encontramos 22 células PB que descargaban trenes de picos rítmicos con periodos recurrentes de 0,8-1 seg. Los autocorrelogramas revelaron que este comportamiento oscilatorio desaparecía cuando su frecuencia de disparo aumentaba durante el sueño REM. Los análisis dinámicos de las frecuencias de disparo secuenciales a lo largo del ciclo vigilia-sueño mostraron que ninguno de los estados de vigilia completos se asocia con un nivel uniforme de frecuencia de disparo espontáneo. Los signos de disminución de las frecuencias de descarga de las neuronas mesopontinas aparecieron hacia el final de la vigilia.

W, precediendo en unos 10-20 segundos a los signos más precoces de sincronización EEG que anuncian el inicio del sueño. Durante la transición de S a W, las tasas de descargas espontáneas aumentaron 20 segundos antes del inicio de la desincronización del EEG. De forma similar, un análisis de grupo de células PB/LDT mostró cambios precorrientes de aumento de las tasas de descarga durante la transición de S a sueño REM, 1 min antes de la desincronización del EEG ( $p < 0,05$ ).

El mayor nivel de descargas espontáneas durante el sueño W y REM fue paralelo a un aumento de la excitabilidad neuronal. De hecho, la probabilidad de respuestas antidrómicas aumentó en un 30-80% durante el sueño REM, y la probabilidad de descargas evocadas sinápticamente aumentó en un 40-85% de S a W o sueño REM.

Concluimos que las neuronas de los núcleos colinérgicos mesopontinos de proyección talámica son buenas candidatas para preparar y mantener los procesos de activación tónica en los sistemas talamo-corticales durante el sueño W y REM asociados con la desincronización del EEG. En nuestra opinión, esta acción se lleva a cabo mediante la despolarización directa de las neuronas talamocorticales y la inhibición del generador talámico de las oscilaciones sincrónicas del huso.

Basándose en experimentos de transección que mostraban que un gato pretrigeminal medio pontino se excitaba completamente, mientras que un corte de sólo 4-5 mm más rostral inducía un sueño ininterrumpido, Moruzzi (1972) concluyó que "las neuronas situadas entre las 2 secciones son las candidatas probables para explicar las diferencias críticas tanto en el EEG como en el comportamiento ocular" (p. 31). Es precisamente en esa región, en la unión mesopontina, donde más tarde se descubrieron dos agregados de células colinérgicas: las neuronas del núcleo tegmental pedunculopontino (PPT) y tegmental laterodorsal (LDT), o grupos Ch5 y Ch6 (Mesulam et al., 1983; Vincent y Reiner, 1987).

La antigua hipótesis de un sistema colinérgico del tallo cerebral transmitido por núcleos talámicos con proyecciones corticales se ha confirmado recientemente combinando técnicas de transporte retrógrado con inmunohistoquímica de la colina acetiltransferasa (ChAT) en el gato (Pare et al., 1988; Smith et al., 1988; Steriade et al., 1988) y la rata (Woolf y Butcher, 1986; Hallanger et al., 1987). Ahora se sabe que la estimulación de los núcleos colinérgicos del tallo cerebral induce efectos despolarizantes tónicos y fásicos sobre las neuronas talamocorticales que son compatibles con la noción de un sistema activador ascendente que opera durante los estados conductuales desincronizados con el EEG de la vigilia (W) y el sueño con movimientos oculares rápidos (REM) (véase Discusión). Las neuronas basales del cerebro anterior proporcionan un contingente importante para la activación colinérgica de la corteza cerebral (Buzsáki et al., 1988), pero

Recibido el 14 de diciembre de 1989; revisado el 16 de febrero de 1990; aceptado el 12 de marzo de 1990.

Este trabajo fue financiado por el Consejo de Investigación Médica de Canadá (MT-3689). S.D. era becario postdoctoral, en excedencia del All-India Institute of Medical Sciences, Nueva Delhi, India. D.P. disfrutó de una beca de estudios del MRC. R.C.D. fue becario postdoctoral en excedencia de la Universidad de Padua, Italia. Damos las gracias a P. Giguère y D. Drolet por su hábil asistencia técnica.

Copyright © 1990 Society for Neuroscience 0270-6474/90/082541-19\$03.00/0

la abrumadora mayoría de sus entradas en el tallo cerebral surgen en neuronas no colinérgicas (Jones y Cuello, 1989) y aún no se ha dilucidado el signo funcional de este circuito.

En este trabajo y en el siguiente (Steriade et al., 1990b), examinamos las actividades de las neuronas registradas en el área peribraquial (PB) del núcleo PPT y en el núcleo LDT durante el ciclo vigilia-sueño para evaluar su papel en los procesos cardinales de activación en los sistemas talamocorticales, a saber, la desincronización tónica del EEG y las ondas fásicas ponto-genículo-occipitales (PGO).

El presente estudio aborda el proceso duradero de desincronización del EEG, caracterizando ambos estados de activación cerebral del sueño W y REM. Para desempeñar un papel en la inducción y el mantenimiento de la desincronización del EEG, las neuronas PB y LDT deben cumplir varios criterios. (1) Deben tener proyecciones identificadas a

el tálamo; (2) sus tasas de descarga deben cambiar con antelación de los cambios entre estados de vigilia, cuando se espera que se produzcan los cambios neuronales más drásticos; y (3) el análisis de los cambios en las descargas de fondo debería completarse con pruebas de excitabilidad celular. De hecho, los registros talámicos y corticales mostraron que puede aparecer una mayor probabilidad de respuesta celular durante los periodos de excitación asociados a una disminución de las descargas espontáneas (Steriade et al., 1974; Livingstone y Hubel, 1981). Por lo tanto, hemos investigado las respuestas de PB y Células LDT a las volas antidrómicas y ortodrómicas durante la vigilia y estados de sueño.

Estos análisis nos llevaron a concluir que las neuronas PB y LDT se encuentran entre los mejores sustratos candidatos para explicar los procesos de activación tónica en las neuronas talamocorticales. La excitación talámica se refleja en las neuronas corticales junto con las acciones colinérgicas directas de las neuronas basales del cerebro anterior, así como en los sistemas monoaminérgicos del tallo cerebral y del hipotálamo posterior.

## Materiales y métodos

**Preparación.** Se realizaron experimentos crónicos en 9 gatos adultos. Los procedimientos de implantación se realizaron bajo anestesia con pentobarbital sódico (35 mg/kg). En primer lugar, se retiró el tentorio para posibilitar la inserción de microelectrodos de registro en dirección perpendicular con respecto al plano horizontal. Esto permitió penetraciones más precisas en los núcleos mesopontinos, de acuerdo con las coordenadas estereotáxicas convencionales. Los cables de registro para monitorizar el estado conductual de vigilancia consistían en tornillos de acero inoxidable en el calvarium que recubre la circunvolución suprasilviana (para ritmos EEG), electrodos de bola de silicio cementados en la cavidad supraorbital (para movimientos oculares, EOG), cables aislados con teflón en los músculos del cuello (para electromiograma, EMG) y electrodos coaxiales en el núcleo geniculado lateral (para ondas PGO talámicas). Los electrodos de estimulación talámica se describen a continuación. Los gatos fueron implantados en posición estereotáxica para mantener la cabeza rígidamente sujeta, sin dolor ni presión (Steriade y Glenn, 1982). Las grabaciones comenzaron 7-10 días después de la cirugía. Los animales dormían ad libitum entre las sesiones de grabación.

**Grabación.** Durante la grabación, la cabeza estaba sujeta, pero los animales podían mover libremente las extremidades y a menudo realizaban ajustes posturales. Las descargas neuronales (señal-ruído > 5: 1) se registraron con microelectrodos de tungsteno (1-2  $\mu$ m de diámetro de punta, 2-8 Mn a 1 kHz). No se analizaron las presuntas fibras, con duración muy corta (< 0,8 mseg) y potenciales de acción exclusivamente positivos. Las espigas unitarias y las ondas focales se registraron simultáneamente en los canales directo (50-10.000 Hz) y FM (1- 700 Hz) de un magnetófono, junto con los impulsos de disparo y las señales de las variables fisiológicas utilizadas para distinguir los estados conductuales (EEG, EOG, EMG y ondas PGO talámicas).

**Estimulación.** Los electrodos estimuladores consistían en 6 microelectrodos de tungsteno (separados 1-1,5 mm) o 4 electrodos coaxiales (separados 2 mm) insertados en los núcleos talámicos medial, intralaminar y lateral. Se alcanzaron en diferentes preparaciones los núcleos anteromedial, anteroventral, me-

núcleos diodorsal y ventromedial, intralaminar rostral (centrolateral-paracentral), ventroanterior-ventrolateral, lateroposterior-pulvinar, geniculado lateral y complejos talámicos reticulares. Sin embargo, no podemos asegurar que se estimularan las fibras terminales para inducir la invasión antidrómica de las neuronas del tallo cerebral. Por lo tanto, se suelen utilizar términos más conservadores (núcleos talámicos medial, intermedio y lateral) para describir las proyecciones de los elementos registrados. Conseguimos modificar el tipo de respuestas antidrómicas u ortodrómicas cambiando la polaridad y la localización del estímulo (véase la Fig. 4). Al estudiar la respuesta celular a las volas antidrómicas y ortodrómicas, la intensidad del estímulo se ajustó para evocar descargas en aproximadamente el 40-70% de los ensayos para evitar efectos de saturación. Las intensidades de estimulación se mantuvieron por debajo del umbral de los movimientos manifiestos. No hubo ningún signo conductual de que se experimentara la estimulación eléctrica ni de que se perturbara el ciclo del sueño.

**Histología.** Tras la finalización de las sesiones de grabación, los animales fueron anestesiados profundamente con pentobarbital sódico (45-50 mg/kg) y perfundidos con 0,5 litros de solución salina al 0,9% seguida de 1 litro de paraformaldehído al 4%. Las localizaciones de los electrodos talámicos estimuladores se verificaron en secciones frontales de 80  $\mu$ m teñidas con tiónina. Las localizaciones de los microelectrodos de registro del tronco cerebral se verificaron en secciones frontales de 80  $\mu$ m teñidas con NADPH-diaforasa, un marcador fiable de las neuronas colinérgicas del tronco cerebral (Vincent et al., 1983), y contrañeídas con rojo neutro (Fig. 1). Se realizaron pequeñas lesiones electrolíticas (0,03-0,15 mA durante 10 s) a lo largo de pistas de microelectrodos exitosas (flecha inferior en la Fig. 1n). Las células se localizaron combinando los controles histológicos y las lecturas micrométricas. Las neuronas encontradas fuera de las neuronas PB/LDT no se incluyeron en los análisis. Aunque algunos estudios enfatizaron que las neuronas colinérgicas registradas de una serie de estructuras centrales se caracterizan por sus potenciales de acción de larga duración, no nos basamos en este criterio que es cuestionable en una posición extracelular. En este trabajo se denominan células colinérgicas mesopontinas pre-suspectivas a aquellos elementos que han sido registrados dentro de los límites histológicos de PB/LDT, tal y como se determinó mediante la tinción de NADPH-diaforasa (Fig. 1).

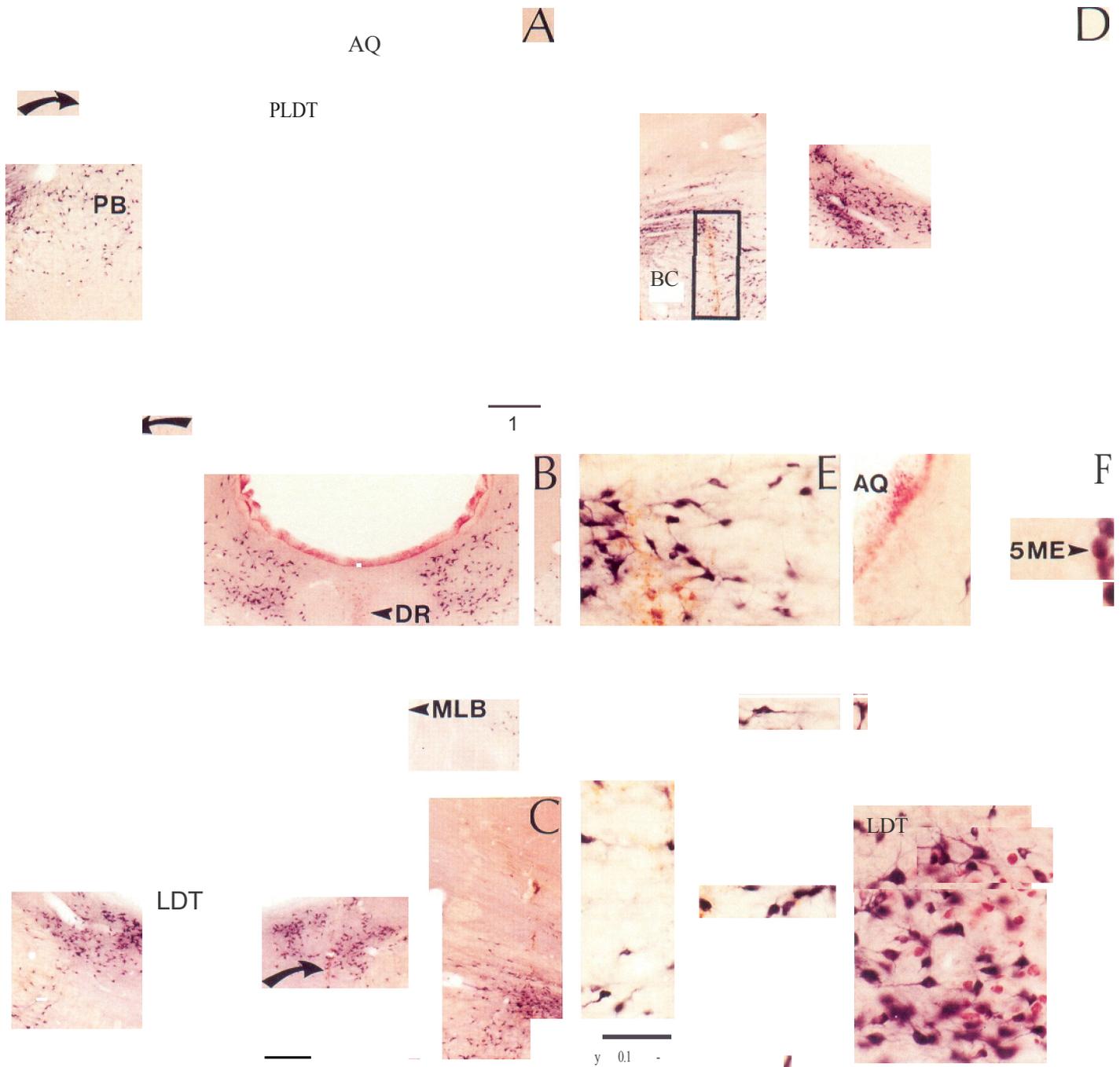
**Análisis de las tasas y los patrones de descarga durante los estados completos y las épocas de transición del ciclo vigilia-sueño.** Analizamos 3 estados completos (vigilia, W; sueño con sincronización EEG, S; y sueño REM) y 2 épocas transitorias (WS y pre-REM; Fig. 2). Los correlatos fisiológicos de los llamados estados estables son bien conocidos (véase Steriade y Hobson, 1976). El tiempo 0 de la época de transición de W a S (WS) estuvo marcado por la aparición de las primeras secuencias de huso sobre el fondo de la desincronización del EEG. La época WS se caracterizaba por repetidos cambios de sincronización-desincronización en la actividad EEG, asociados con el cierre y la reapertura de los ojos, y su duración variaba considerablemente (10 seg-2 min). El inicio del S se definió como el momento en que la sincronización del EEG dejaba de estar interrumpida por periodos transitorios de desincronización. El tiempo 0 del estado de transición de S a sueño REM (pre-REM) se tomó como la aparición de la primera onda PGO talámica. El inicio del sueño REM se definió como el comienzo de la desincronización del EEG. El despertar del sueño S se asoció con la desincronización del EEG (seguida de un aumento del tono muscular y de los movimientos oculares), mientras que el despertar del sueño REM se indicó por la reaparición del tono muscular, que fue precedida por el cese de las ondas PGO y de las sacadas oculares (Fig. 2). Las frecuencias y patrones de disparo durante W se analizaron a partir de periodos sin movimientos bruscos o con movimientos oculares aislados y ocasionales. Así, las medidas reflejan el estado de W tranquila.

Los intervalos entre picos se midieron con una resolución de 100 segundos y se almacenaron en un ordenador. Se identificaron los estados de vigilancia W, WS, S, pre-REM y REM. Para cada época de la célula, se calcularon y tabularon las frecuencias de disparo durante los estados disponibles. Se combinaron los estados idénticos de todas las épocas de una célula para obtener una frecuencia de disparo media ponderada para el estado y la célula.

Se seleccionaron las celdas con datos de tasas para conjuntos específicos de estados de vigilancia (como W, S y REM) y se calcularon las medianas y las tasas medias igualmente ponderadas para cada estado en todas las celdas, junto con los errores estándar. La significación estadística de las diferencias de frecuencia entre pares de estados se calculó mediante la prueba de Wilcoxon de rangos pareados.

Los datos de intervalos de espigas también se utilizaron para calcular histogramas individuales de intervalos entre espigas (ISI) e ISH agrupados para múltiples células utilizando medianas bin-by-bin. También se calcularon el autocorrelograma de la actividad oscilatoria y el correlograma cruzado entre pares de células registradas simultáneamente.

Se calcularon las frecuencias de disparo medias secuenciales (SMF) en intervalos de 1 segundo para las transiciones de estado de W a WS y S, S a W y S a pre-REM y



**Figura 1.** Localización histológica de las pistas microelectrodo. Secciones frontales teñidas para la actividad NADPH-diafurasc y teñidas con rojo neutro. Las secciones A-D van de rostral a caudal, entre los planos frontales 0 y - 1,5. El rectángulo en D se representa en la figura 1. El rectángulo de E se representa a mayor aumento en F. El panel N muestra las neuronas colinérgicas del núcleo LDT y las neuronas no colinérgicas adyacentes (teñidas en rojo) del locus coeruleus. Las pistas de microelectrodos a través del área PB y el núcleo LDT están marcadas con un brazo "t" en A y C. Una pequeña lesión electrolítica (bottom arm) en 4) se hizo unos pocos milímetros ventral a la última neurona registrada en esa pista. La barra en A es válida para otros paneles, con la excepción de E y N. Abreviaturas distintas de PB y LDT: AQ, acueducto; RC, brachium conjunctivum; nfi, rafe dorsal; MLB, haz longitudinal medial, 5ME, núcleo mesencefalo del 5º nervio.

REM. Para las 21 células que tenían periodos largos adecuados para S, pre-REM y REM, produjeron SMFs coloreados en intervalos de 5 segundos alineando los SMFs de células individuales con el inicio del estado pre-REM o REM y calculando después la mediana de la tasa de cada intervalo de todas las células para la variable de tiempo. Para tener una idea de la signi-

Para calcular los cambios en la tasa de SMF, se calculó la mediana de la tasa de los primeros 30 segundos (6 intervalos) del periodo analizado para cada una de las 21 células. A continuación, estos valores se emparejaron con los siguientes intervalos del ciclo, y se realizó la prueba de Wilcoxon de rangos emparejados para los cambios de frecuencia de cada par de intervalos en todas las células.

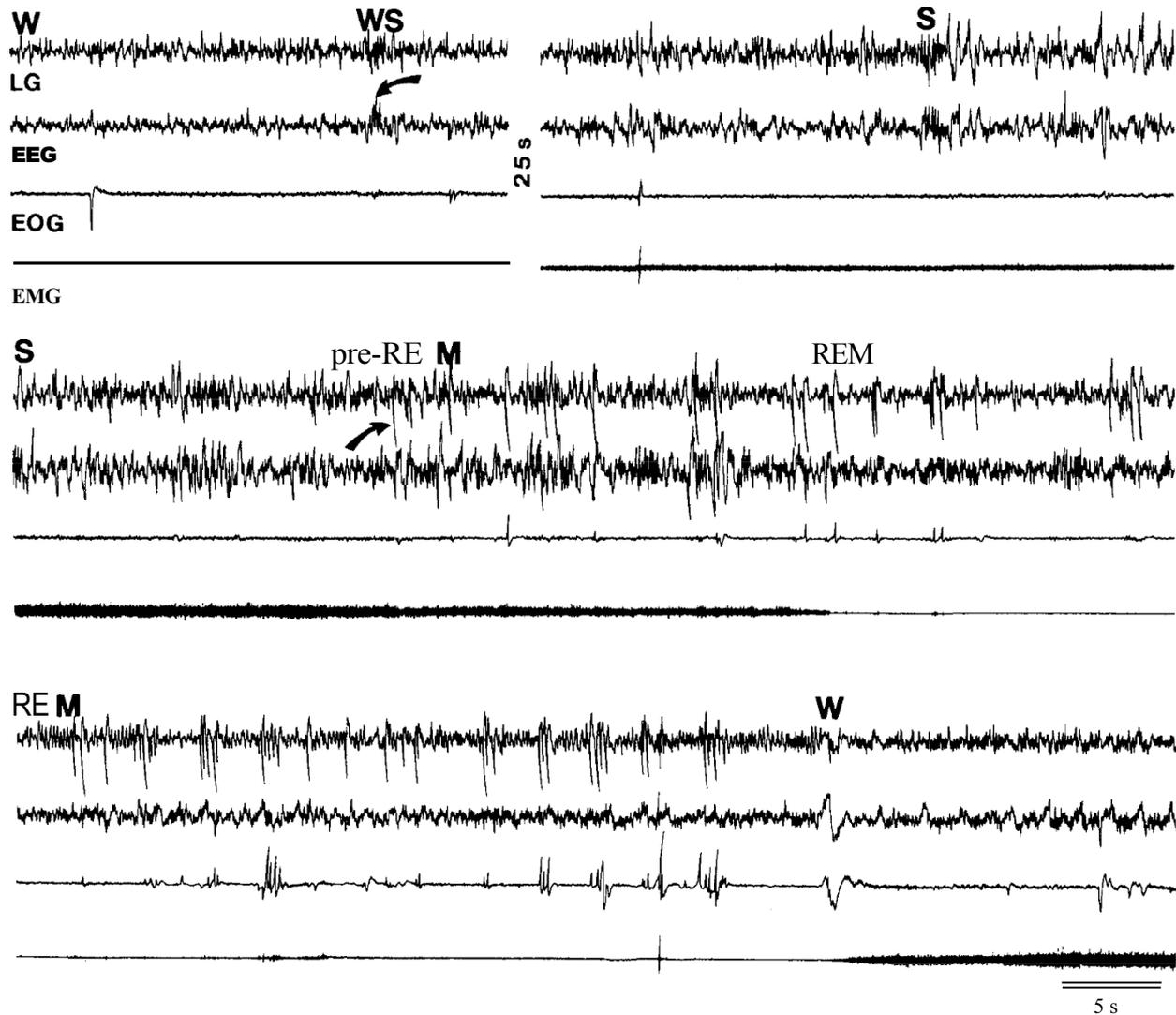


Figura 2. Criterios para distinguir los estados completos y las épocas de transición del ciclo vigilia-sueño. Criterios para distinguir estados completos y épocas de transición del ciclo vigilia-sueño. Los 4 trazos escritos con tinta representan la actividad del núcleo talámico geniculado lateral (LG), los ritmos EEG, los movimientos oculares (EOG) y la actividad de los músculos del cuello (EMG). m, vigilia; S, sueño sincronizado EEG; WS, época de transición entre W y S que comienza con la primera secuencia de huso (flecha, transcurridos 25 segundos entre las 2 porciones de WS que conducen a S); pre-REM, época de transición entre S y sueño REM que comienza con la primera onda PGO talámica (flecha).

## Resultados

### Base de datos e identificación neuronal

Hemos registrado 780 células dentro de los límites histológicos de los dos tercios rostrales del núcleo PPT y en el núcleo LDT, según determinaron sus neuronas colinérgicas teñidas con la técnica NADPH-diaforasa (Fig. 1). Así pues, nuestra exploración del núcleo PPT se limitó a la zona PB (Fig. 1, A-D) y no incluyó el núcleo parabraquial más posterior, alineado lateralmente a la porción más caudal del braquio conjuntivo. La distinción entre los sectores PB y parabraquial es importante en vista de las marcadas diferencias en las proporciones de células colinérgicas y aminérgicas en estos 2 niveles (véase Discusión). Como se muestra a continuación, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las células PB y LDT en lo que respecta a las tasas y patrones de disparo durante los estados de vigilia-sueño. Por lo tanto, en muchos casos utilizaremos los términos globales neuronas PB/LDT o neuronas de núcleos colinérgicos mesopontinos, a menos que nos refiramos a una neurona o clase celular concreta.

De esas 780 células, 82 fueron invadidas antidrómicamente desde núcleos talámicos. Los criterios para la identificación antidrómica fueron la latencia de respuesta fija, la colisión con picos que ocurrían espontáneamente a intervalos adecuados y la capacidad de seguir 2-3 estímulos a 250-300 Hz (ver Figs. 3A, 4). Doce neuronas fueron retroalimentadas a diferentes desde 2 núcleos distantes (Fig. 3fi).

El porcentaje de neuronas activadas antidrómicamente de la población total de elementos PB/LDT analizados (alrededor del 10%) no refleja la densa inervación de los núcleos talámicos desde los núcleos colinérgicos del tronco cerebral, que proporcionan entre el 50 y el 83% del total de aferentes que se originan en el núcleo reticular superior del tronco cerebral del gato (Paré et al., 1988; Steriade et al., 1988). En la literatura se suelen mencionar porcentajes bajos de neuronas identificadas antidrómicamente. Una explicación es que la invasión antidrómica puede estar bloqueada por la hiperpolarización en el momento de la prueba. Otro factor que explica los porcentajes relativamente bajos de células identificadas antidrómicamente es que la estimulación de prueba suele aplicarse a un número bastante limitado de estructuras. De hecho, nuestro interés se centraba en las acciones colinérgicas del tronco encefálico sobre la tala.

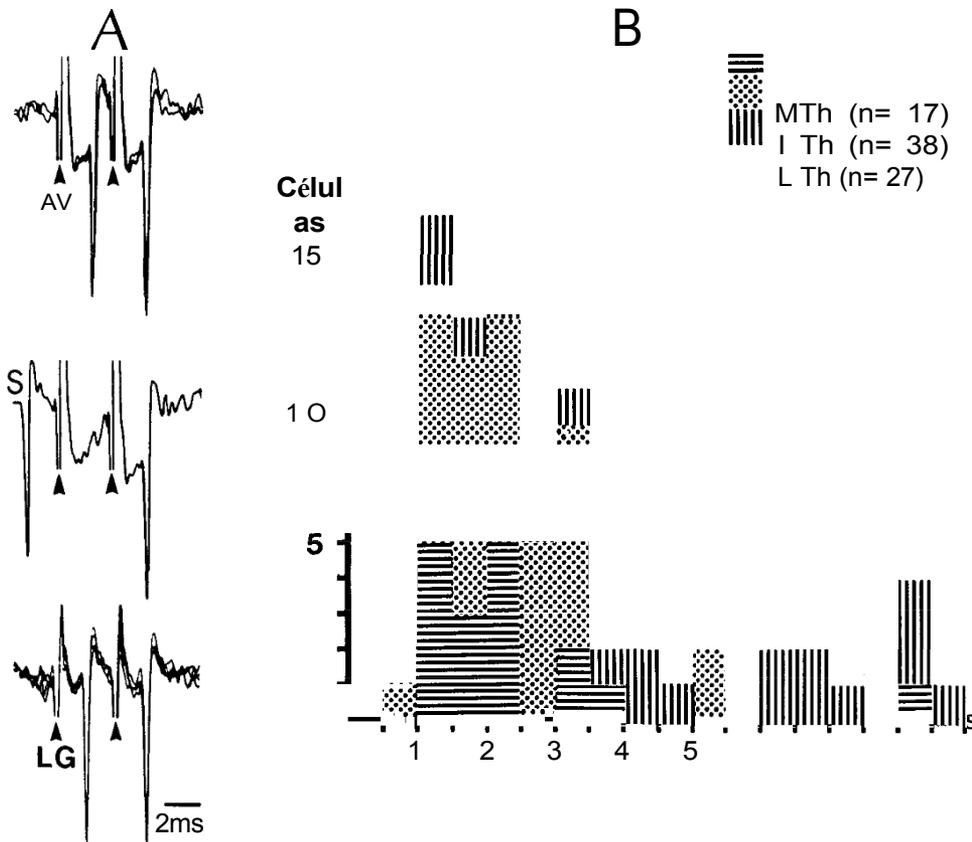


Figura 3. Identificación antidrómica de células PB y LDT con proyecciones talámicas. A, Neutrón LDT de conducción rápida, invadido antidrómicamente desde electrodos talámicos medial (A K, latencia de respuesta de 1,7 mseg) y lateral (LG, latencia de respuesta de 1,4 mseg). Dos estímulos (puntas de flechas) a 300 Hz. Fila central; colisión de la primera espiga antidrómica con un potencial de acción espontáneo (S). B, Histograma de latencias de respuesta antidrómica en 82 células PB y LDT. Los símbolos indican los lugares donde se encontraban las puntas de los electrodos talámicos de estimulación: MTh, núcleos mediales: anteromedial, anteroventral, mediodorsal y ventromedial; ITh, región talámica intermedia: complejo intralaminar centrolateral-paracentral y partes mediales de los núcleos lateroposterior y ventrolateral; y LTh, núcleos laterales: complejo reticular, ventroanterior, pulvinar y geniculado lateral. Cuando la misma célula fue invadida antidrómicamente desde 2 loci, la respuesta de latencia más corta fue incluida en el histograma. Obsérvese que las respuestas con latencias largas (> 5 ms) se evocaron principalmente desde LTh (núcleos reticular y geniculado lateral). En esta y otras figuras, la positividad hacia arriba.

La activación antidrómica de las neuronas tegmentales mesopontinas también puede provocarse; sin embargo, sólo el 5-10% de las células de este contingente de proyección hipotalámica son colinérgicas (El Mansari et al., 1989). Otra explicación de los bajos porcentajes de respuestas antidrómicas es que rara vez se intentan modificaciones sistemáticas en los parámetros y/o polaridad de los estímulos en todas las células. En la Figura 4, que ilustra 2 neuronas PB recordadas simultáneamente, se muestra que cambios sutiles en la polaridad y localización del estímulo pueden alterar significativamente la respuesta celular. El estallido evocado sinápticamente de la neurona *a* se transformó en una respuesta antidrómica cambiando la polaridad de la estimulación aplicada entre 2 microelectrodos insertados en el núcleo lateroposterior. Ambas neuronas *a* y *b* se activaron antidrómicamente (con latencias diferentes) desde el núcleo lateroposterior, pero la estimulación del núcleo geniculado lateral adyacente indujo una respuesta ortodrómica en ambas células, probablemente activando la vía descendente desde la parte ventral del complejo geniculado lateral (ver Discusión). La secuencia temporal de las descargas sinápticas evocadas en las 2 células (con *b* precediendo a *a*) fue corroborada por la misma sucesión en los correlogramas cruzados durante los estados W y S (Fig. 4).

Una población mucho mayor de células PB/LDT ( $n = 570$ ) fue conducida sinápticamente a latencias cortas (3-8 mseg) desde el tálamo. Veinticinco neuronas PB/LDT respondieron con una ráfaga de descargas evocadas sinápticamente unos milisegundos después de su invasión antidrómica. En algunos de esos casos, los cambios dependientes del estado en la probabilidad tanto de las actividades antidrómicas como sinápticas pudieron ser estudiados durante el ciclo vigilia-sueño (ver Figs. 14, 15a).

De 780 células PB/LDT, 585 (75%) neuronas descargaron tónicamente. Este patrón confiere a las células PB/LDT propiedades que las cualifican para la inducción y el mantenimiento del proceso tónico de desincronización del EEG durante el sueño W y REM. La tonicidad de las descargas se evaluó primero a partir de la inspección visual de grabaciones que mostraban picos únicos, distribuidos de forma relativamente uniforme en el tiempo, durante todos los estados de vigilia. Posteriormente se confirmó mediante ISIHs en PB individuales ( $n = 92$ ) y LDT ( $n = 27$ ), y en un conjunto de 34 células PB/LDT con proyecciones talámicas identificadas.

Se analizaron los SMF a lo largo del ciclo vigilia-sueño o durante al menos 2 estados con patrones EEG opuestos en 138 neuronas. De ellas, 33 constituyeron la base de los análisis agrupados en conjuntos neuronales durante las transiciones entre estados EEG sincronizados y EEG desincronizados. Las muestras neuronales relativamente pequeñas analizadas para las transiciones de W-a-WS-a-S ( $n = 5$ ), S-a-preREM-aREM ( $n = 21$ ), y S-a-W ( $n = 7$ ), se explican por una serie de factores: (1) la mayoría de las células registradas a lo largo del ciclo en el orden S-REM-W se perdieron durante los movimientos brutos en W, por lo que faltó la transición W-WS-S; (2) necesitábamos al menos 60-100 s para un periodo de referencia que precediera al tiempo 0 de la siguiente época de transición o estado completo; un estado W puramente tranquilo, con desincronización EEG completa y sin movimientos, raramente dura periodos tan largos en animales con la cabeza sujeta; y (3) el sueño REM puede ocurrir sin un periodo pre-REM suficientemente largo. En las células restantes se observaron datos cualitativamente similares a los ilustrados en nuestros análisis agrupados.

Se realizaron histogramas peristimulares (PSH) de respuestas antidrómicas y ortodrómicas a estímulos talámicos en 25 células PB/LDT durante todos o al menos 2 estados de vigiliencia.

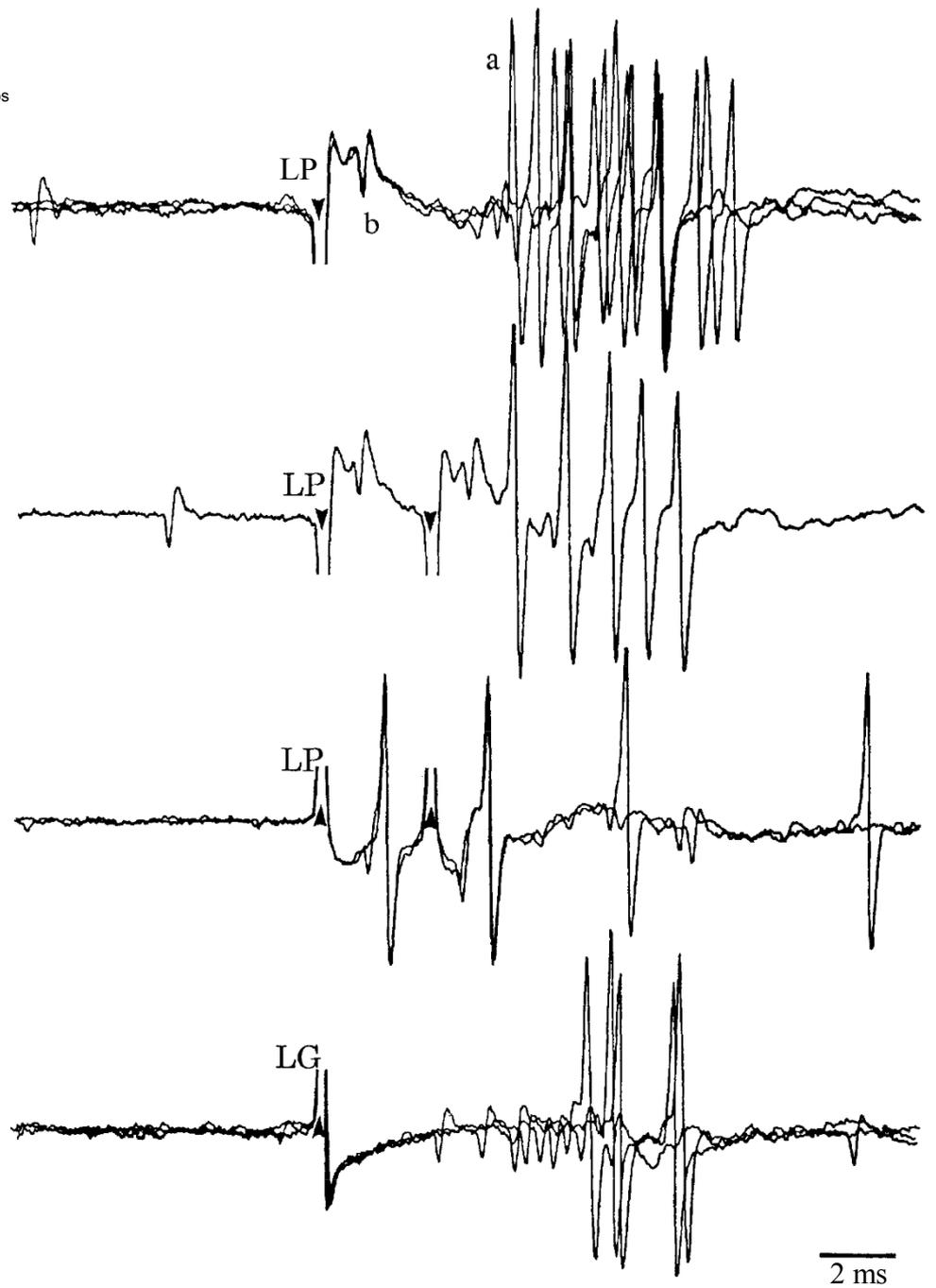
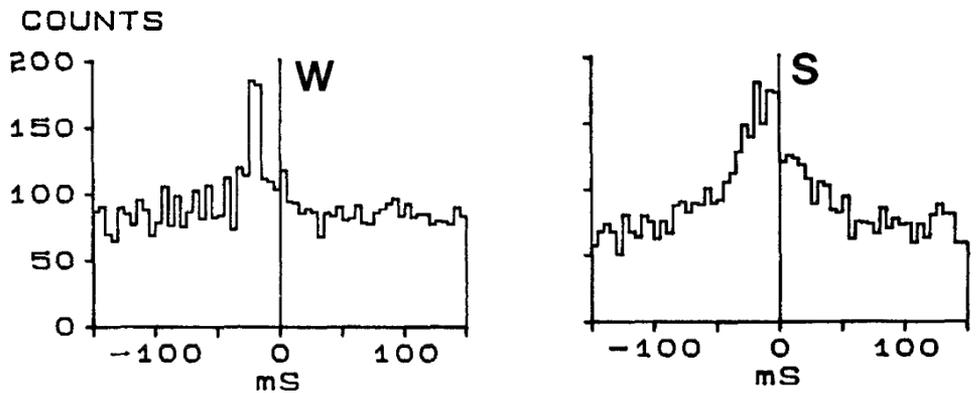


Figura 4. Cambio de las características de la identificación neuronal modificando la polaridad y la ubicación del estímulo. Dos neuronas registradas simultáneamente en el parte dorsomedial del área PB (espiga grande pico a inicialmente positivo y pico pequeño b). Dos trazos superiores: activación antidrómica de la neurona b (latencia de respuesta de 1,3 msec) y estallido evocado sinápticamente en la neurona a (latencia de unos 5 msec) estimulando el núcleo lateroposterior (LP). Tercer trazo: invasión antidrómica de la neurona a (latencia de 1,6 msec) cambiando la polaridad del estímulo LP. Cuarto trazo: invasión antidrómica de la neurona a (latencia de 1,6 msec) cambiando la polaridad del estímulo LP. Cuarto trazo: activación sináptica de ambas células (latencia de respuesta más corta en la célula b) estimulando el núcleo geniculado lateral (LG). Abajo: correlogramas cruzados de las 2 neuronas (la célula a es la célula de referencia) durante los estados W y S.



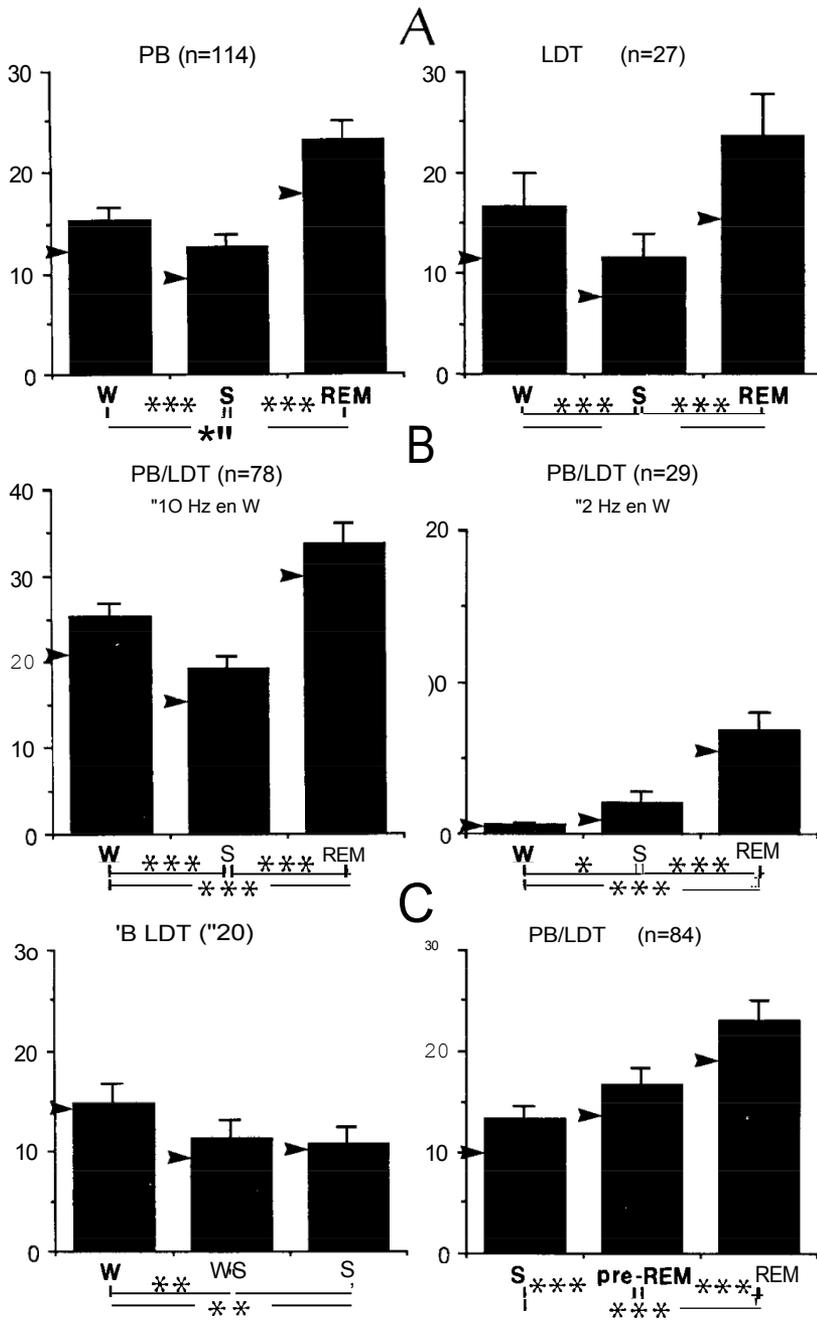


Figura 5. Tasas de encendido de las neuronas PB y LDT durante estados completos y épocas de transición del ciclo vigilia-sueño. *A*, Media (columnas) con SE, media (puntas de flecha) y diferencias estadísticas en muestras de 114 células PB y 27 células LDT durante el sueño W, S y REM. *B*, Tasas de disparo en 2 muestras de células PB/LDT distinguidas por sus tasas de descarga relativamente altas (> 10 Hz) y bajas (< 2 Hz) durante W. *C*, Tasas de disparo durante la época de transición WS de W a S en una muestra de 20 células PB/LDT, y durante la época de transición pre-REM de S a REM en una muestra de 84 células PB/LDT. En *B* y *C*, mismas representaciones gráficas que en *A*. Diferencias estadísticas entre estados indicadas por 1 asterisco ( $p < 0.01$ ), 2 asteriscos ( $p < 0.005$ ), y 3 asteriscos ( $p < 0.0005$ ).

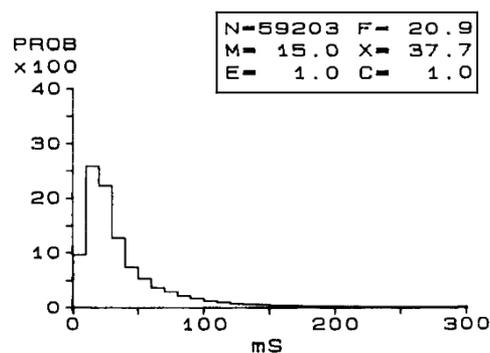
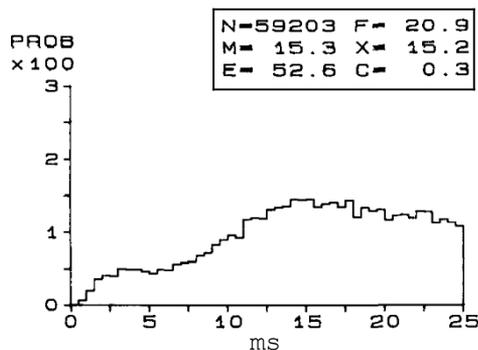
*Aumento tónico de la frecuencia de disparo durante estados de desincronización EEG*

Análisis de las frecuencias de disparo en grupos de PB (n= 114) y LDT (n = 27) durante los estados completos mostraron que las tasas más bajas ocurrían en S, con tasas medias en W y tasas más altas en REM (Fig. 5A). Sin embargo, estos valores subestiman en gran medida las diferencias entre el aumento de las tasas de disparo espontáneo durante los estados EEG-desincronizados en comparación con el sueño EEG-sincronizado. De hecho, como se muestra en la siguiente sección (véanse Figs. 9-13), la tasa de descarga global en S comprendía periodos durante los cuales aparecían signos precursores de aumento del disparo unos 20-60 s antes del inicio del sueño W o REM. Por el contrario, la tasa de descarga global en W se redujo porque el periodo analizado

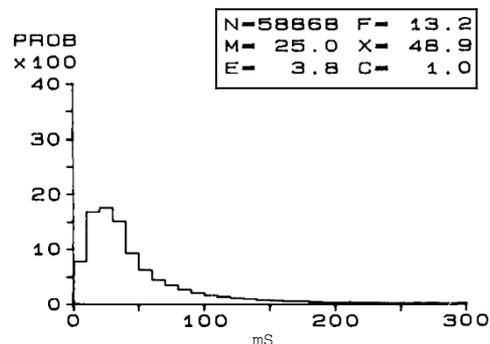
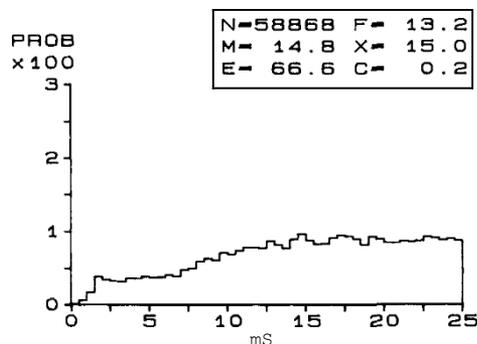
mientras que W comprendía la disminución de disparos que anunciaba la época transitoria WS. A pesar de estas fluctuaciones de las descargas, las diferencias entre S y ambos estados de desincronización EEG fueron estadísticamente significativas ( $p < 0,0005$ ) tanto en las muestras de células PB como LDT (Fig. 5A). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias de disparo de las células PB y LDT en todos los estados ( $p > 0.1$ ).

Dado que observamos diferencias notables entre una mayoría de células PB/LDT con altas frecuencias de descarga en W y una clase neuronal PB/LDT menos numerosa con bajas frecuencias de descarga en W, analizamos las frecuencias de disparo de los 2 grupos celulares, 1 con descargas superiores a 10 Hz durante W, el otro mostrando frecuencias de disparo inferiores a 2 Hz durante el mismo estado (Fig. 5B). Las células PB/LDT de descarga rápida (n = 78) aumentaron sus tasas de disparo

IE3IHAVG-W



ISIH AVG-S



ISIH AVG-REM

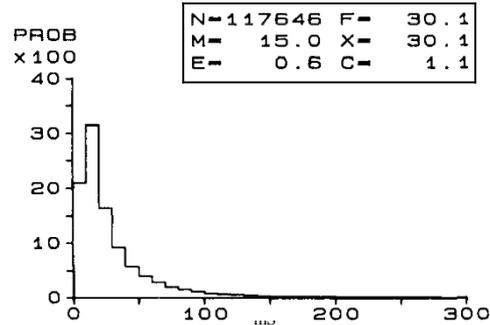
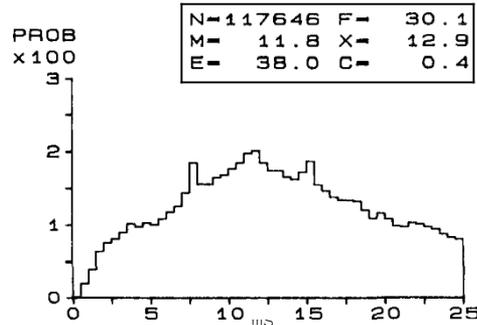


Fig. 6. Histogramas agrupados de intervalos entre espigas (ISI Hs) en un grupo de 34 células PB/ LD\* con proyecciones talámicas durante el sueño W, S y REM. Para cada estado, se calcularon 2 ISIHs, con intervalos de 0,5 mseg (/e/) y intervalos de 10 mseg (derecha). Símbolos: N, número de intervalos; F, frecuencia de descarga/seg; M, modo de intervalo (en mseg); I, intervalo medio (en mseg); fi, porcentaje de intervalos en exceso del intervalo de tiempo representado; U, coeficiente de variación. Véanse los comentarios en texto.

durante el sueño W y REM, en comparación con el S; las diferencias entre todos los estados fueron significativas ( $p < 0.0001$ ). Por el contrario, las neuronas PB/LDT de descarga lenta ( $n = 29$ ) aumentaron sus frecuencias de disparo de W a S ( $p < 0,01$ ), y aumentaron aún más sus frecuencias de descarga a sueño REM ( $p < 0.0001$ ). No hubo diferencias significativas entre 1 grupo y el otro en cuanto a los porcentajes de células con proyecciones talámicas identificadas antidrómicamente ( $44/0$  en el de descarga rápida, 56% en el grupo de descarga lenta).

Los ISI Hs agrupados de 34 células PB/LDT de proyección talámica (Fig. 6) que se pudieron registrar durante periodos de tiempo suficientes en todos los estados muestran que (1) las tasas de disparo medias fueron de 20,9 Hz en W, 13,2 Hz en S y 30,1 en sueño REM, con diferencias entre todos los estados a  $p < 0,0005$ ; esas 34 células aumentaron en 29 de ellas a  $p < 0,0005$  en el sueño REM, con diferencias entre todos los de  $p < 0,0005$ ; de esas 34 células, 29 aumentaron en el sueño REM.

(2) los intervalos muy cortos ( $< 5$  mseg), que reflejan ráfagas de alta frecuencia, representaron sólo el 3,4%, el 2,7% y el 6,7% de los intervalos en W, S y REM, respectivamente; los intervalos muy largos ( $> 200$  mseg) también constituyeron proporciones insignificantes: 1,0% en W, 2,5% en S, y 0,7% en el sueño REM; (3) en consecuencia, la mayoría de los intervalos se concentraron dentro de una clase media, entre 10 y 40 mseg; (4) la relación entre el intervalo medio y el modo intervalo para intervalos entre 0 y 25 mseg se aproximó a 1, un signo de simetría ISIH; (5) para la misma clase de intervalo (0-25 mseg), el coeficiente de variación fue muy pequeño (0,5) durante todas las estadísticas.

Veintidós células PB mostraron un patrón oscilatorio de descarga consistente en trenes de puntas únicas que se producen periódicamente,

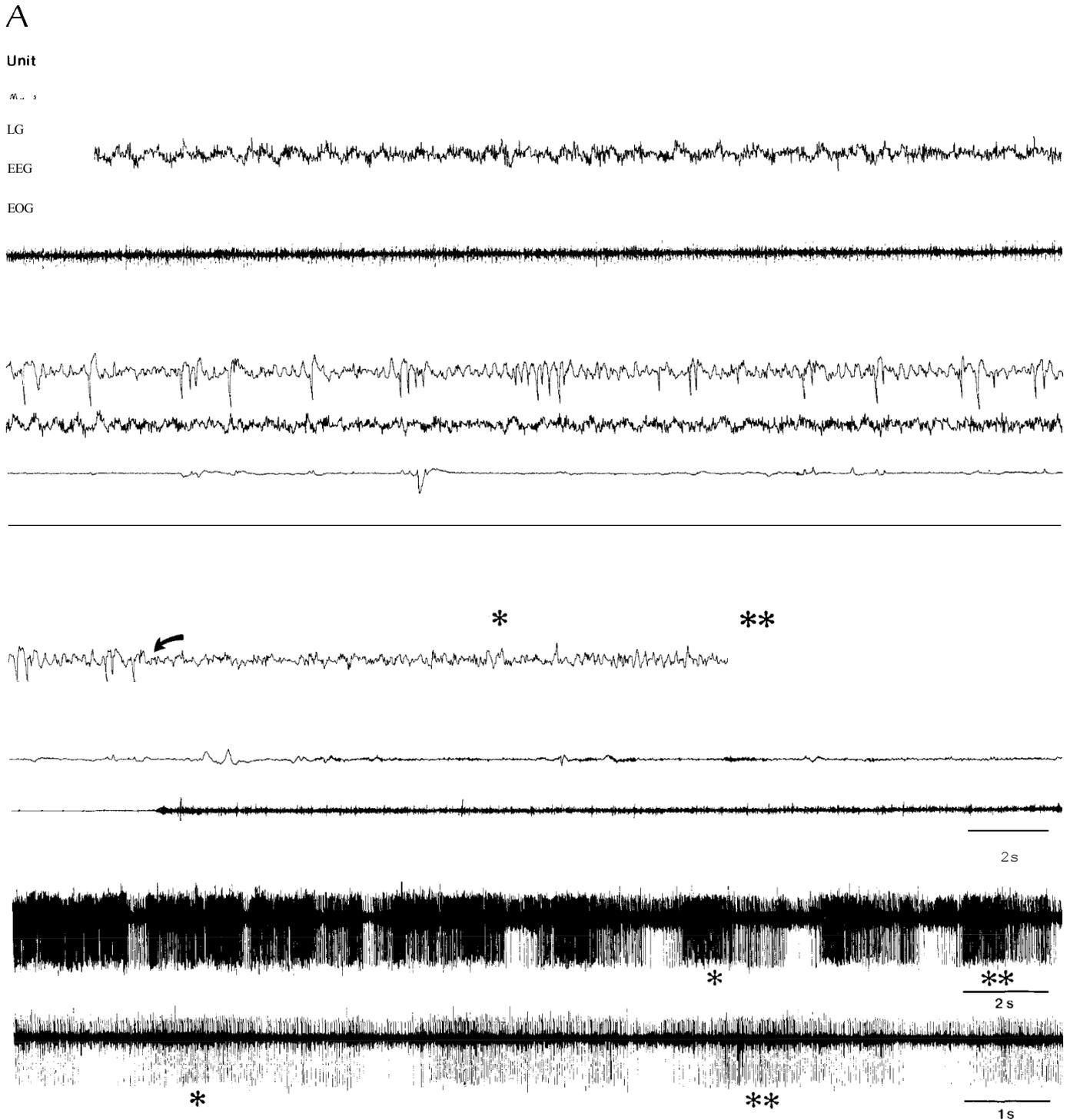


Figura 7. Patrones de descarga oscilatoria en una célula PB proyectada a la parte medial del tálamo. Patrones de descarga oscilatoria en una célula PB que se proyecta a la parte medial del tálamo. Las 5 trazas escritas con tinta representan la actividad de la unidad (véase el gran pico en las trazas osciloscópicas de la parte inferior) y los correlatos fisiológicos de los estados de vigilia-sueño. A, durante la vigilia tranquila; B, durante el sueño REM; C, despertar (flecha) del sueño REM. Abajo, 2 trazos de potenciales de acción originales (grande) a 2 velocidades diferentes, que representan los trenes de espigas marcados con 1 y 2 asterisco en C.

generalmente con un ritmo de 0,8-1 Hz. Los autocorrelogramas en 7 de estas células durante varios estados de vigilancia revelaron que la ritmicidad era particularmente pronunciada durante W y S y que se borraba durante el sueño REM en paralelo con el aumento del disparo neuronal durante este último estado. La neurona representada en las Figuras 7 y 8 descargaba a 32,1 Hz en W, 28,3

Hz en S, y 52 Hz en sueño REM. La recurrencia en forma de reloj de los trenes de espigas a unos 0,9 Hz durante W (Fig. 7A), visible en los múltiples picos del autocorrelograma en la Figura 8, desapareció con el aumento de la frecuencia de disparo durante el sueño REM (Fig. 7B). Los trenes de espigas rítmicos reaparecieron al despertar del sueño REM, esta vez con un marcado aumento de la duración de los trenes de espigas, re-

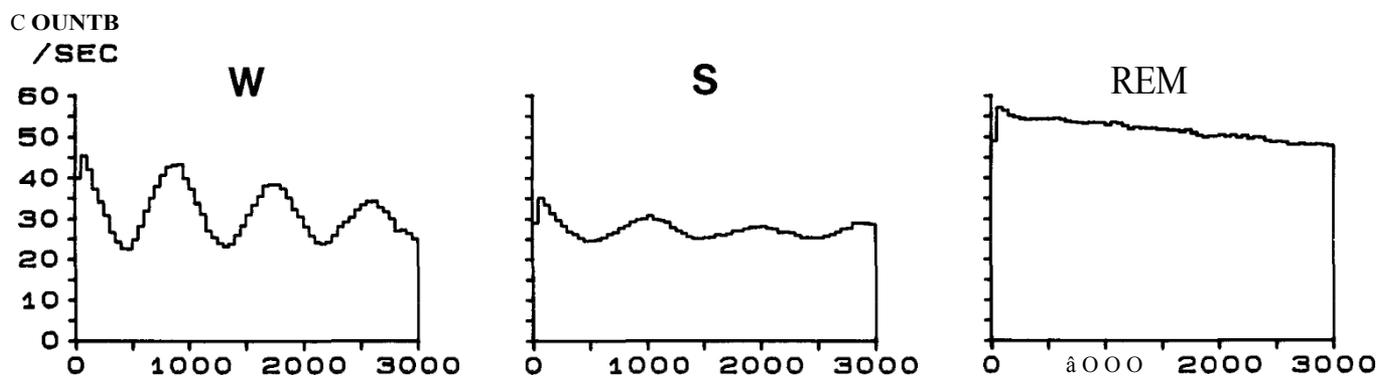


Figura 8. Autocorrelogramas de la unidad representada en la Figura 7 (pico grande) durante el sueño W, S y REM.

a 0,3 Hz (Fig. 7). La inspección de los trenes de espigas (trazas osciloscópicas inferiores de la Fig. 7) revela un patrón de descarga de aceleración-deceleración, que alcanza los 90-100 Hz en la mitad del tren.

*Cambios precursores en el disparo de las células PB/LDT que anuncian cambios en el estado de vigilancia*

La figura 9 muestra el cambio continuo de la frecuencia de disparo de una neurona PB de descarga tonal a lo largo del ciclo vigilia-sueño. Los valores de la tasa en cada estado coinciden con los encontrados en la muestra de 114 células analizadas como grupo. La tasa de hring en W disminuyó progresivamente antes de la aparición de los signos EEG que marcan la época transicional WS, y la tasa de hring en S aumentó mientras el EEG estaba todavía totalmente sincronizado, 30 segundos antes de la época transicional pre-REM que conduce al sueño REM. Este cuadro indica que las descargas neuronales en los núcleos colinérgicos mesopontinos no son "estables". Por lo tanto, investigamos la cronología de las descargas durante las épocas de transición del ciclo vigilia-sueño.

En una muestra de 20 células PB/LDT, la disminución de la frecuencia de disparo de W y WS fue significativa ( $p < 0,005$ ), mientras que no se encontraron diferencias significativas entre WS y S (véase la Fig. 5).

Los cambios dinámicos en una sola célula PB y un grupo (n = 5) de neuronas PB/LDT mostraron una disminución en sus tasas de disparo durante W más de 10 seg antes de la primera secuencia de huso que indica el inicio de la época WS (Fig. 10, A, B). Por lo tanto, la disminución de las tasas de descarga se produjo esencialmente antes de WS, y no se observó ninguna otra disminución de la tasa de WS a S.

Por el contrario, durante la transición de S a W, las neuronas PB aumentaron sus frecuencias de disparo unos 15-20 s antes de la desincronización del EEG (Fig. 11) y mucho antes del aumento del tono muscular y de los movimientos oculares que aparecieron posteriormente.

La transición de S a REM se analizó en 84 células PB/LDT. El aumento de la tasa S a pre-REM y, además, de pre-REM a REM fue significativo en  $p < 0,0001$  (ver Fig. 5). Los SMF y los histogramas acumulativos mostraron que una tasa significativa ( $p < 0,05$ ) en la frecuencia de descarga se produce unos 60 segundos antes del inicio de la desincronización del EEG en el sueño REM (Figs. 12, 13). Dado que este periodo comprende ondas PGO y algunas de estas neuronas también eran PGO-on (ver artículo siguiente), hicimos un análisis separado tomando como tiempo 0 el inicio de la época pre-REM. Este análisis mostró un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en las tasas de disparo de S a pre-REM, 25 seg antes de la aparición

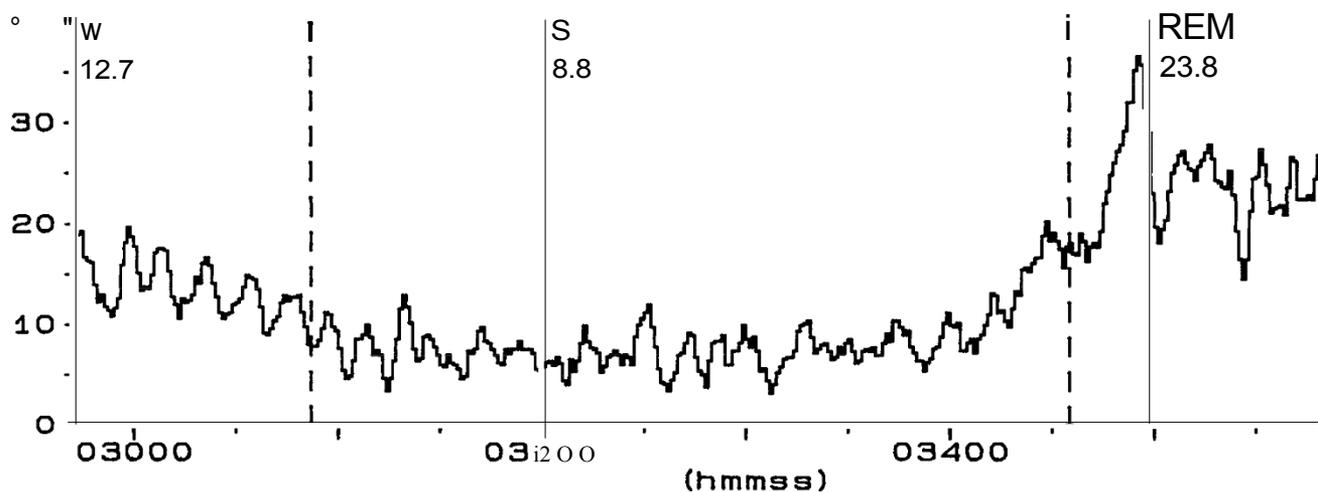


Figura 9. Frecuencia de disparo secuencial (SMF) de una célula PB activada antidrómicamente desde el tálamo intralaminar rostral a través del ciclo vigilia-sueño. Frecuencia de disparo secuencial (SMF) de una célula PB activada antidrómicamente desde el tálamo intralaminar rostral a lo largo del ciclo vigilia-sueño. La abscisa indica el tiempo real. Se indican las frecuencias de disparo medias durante W, S y REM (Hz) para cada estado. Las épocas transitorias de WS y pre-REM se indican mediante líneas verticales interrumpidas (a las 0:30:53 y 0:34:34, respectivamente). Obsérvese la actividad cíclica hacia el final del W (véase también la Fig. 11 B).

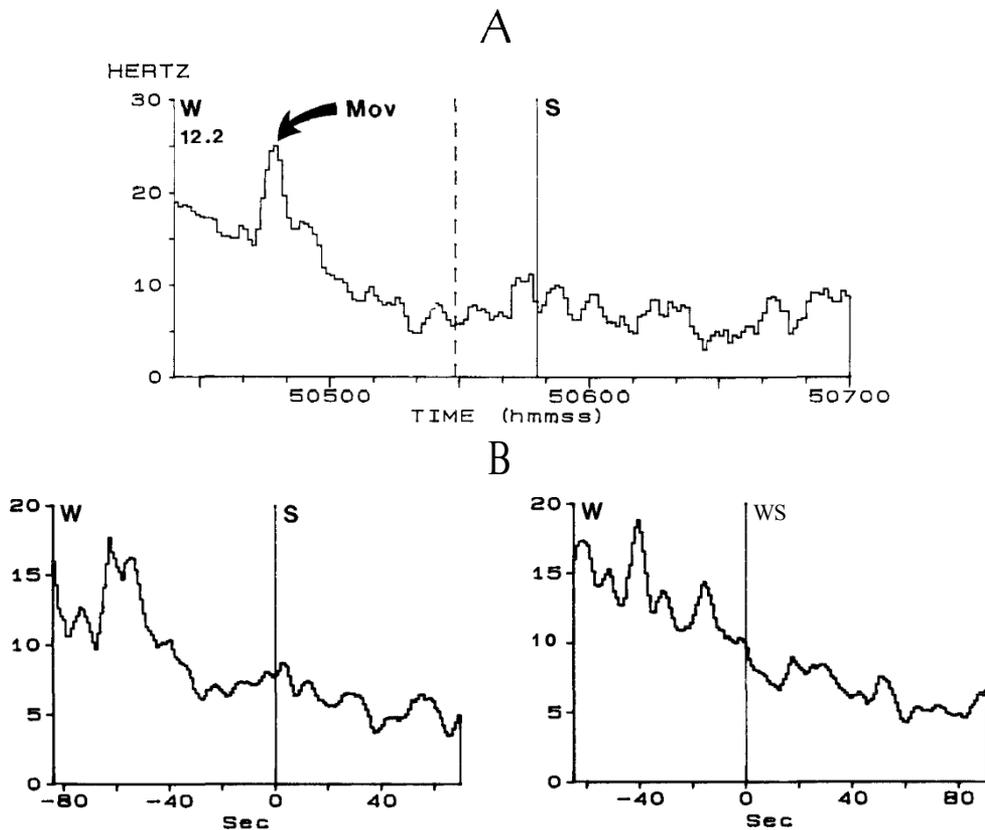


Figura 10. SMFs en una célula PB de proyección talámica (A) y un grupo de 5 células PB/LDT (B) durante la transición de W a S y de W a WS. En A (el mismo tipo de gráfico que en la Fig. 9), la línea discontinua a las 5:05:29 indica el inicio de WS; la flecha en W indica el movimiento corporal bruto (Mov). En B, se toma el tiempo 0 para el inicio de S y WS.

de la primera onda PGO que marca el inicio de la fase transitoria pre-REM (Fig. 13).

#### Aumento de la excitabilidad antidrómica y sináptica de las células PB/LDT durante estados conductuales desincronizados con el EEG

La probabilidad de respuesta antidrómica aumentó en un 35-50% desde los estados W y S hasta el sueño REM (Fig. 14; véase el potencial de acción y la casilla en el histograma peristimular marcada con asteriscos). Además, en algunas neuronas la invasión antidrómica se detectó selectivamente durante el sueño REM (Fig. 15n). Este último hecho enfatiza aún más que el porcentaje de células antidrómicamente identificadas (<sup>100</sup>%) en nuestra muestra es una gran subestimación (véanse también los comentarios en la sección sobre base de datos e identificación neuronal). El grado de aumento de la excitabilidad sináptica durante los estados de desincronización del EEG variaba de una célula a otra, pero era constante. La probabilidad aumentada de respuestas neuronales a voleas ortodrómicas de S W y sueño REM estaba en el rango de 12 y 25% en algunas neuronas (Fig. 14), pero podía alcanzar 40-70% (Fig. 15B) e incluso 80% (Fig. 15a) en otras células. El sueño REM fue, con diferencia, el estado con mayor responsabilidad neuronal. Esto se observó incluso en algunas células cuya tasa de disparo espontáneo era menor en REM que en W, mientras que su excitabilidad sináptica era mucho mayor (85%) durante el sueño REM.

que durante W (Fig. 16).

#### Debate

##### Algunas observaciones sobre el código químico y la organización de entrada-salida de las neuronas reticulares mesopontinas

La única identificación segura de las neuronas colinérgicas puede lograrse combinando la tinción intracelular y la inmunohistoquímica de ChAT. En este, parece imposible re

La mayoría de las neuronas registradas en este estudio eran colinérgicas por las siguientes razones. No obstante, es muy probable que la inmensa mayoría de las neuronas registradas en este estudio fueran colinérgicas por las siguientes razones. (1) Registramos más del 90% de nuestra muestra de PB en los niveles estereotáxicos Al-PI (véanse estos niveles en las secciones teñidas con NADPH-diaforasa en la Fig. 1). A este, las neuronas colinérgicas representan el 85% de las células, mientras que las neuronas monoaminérgicas constituyen sólo el 15% (véanse las Tablas III y IV de Webster y Jones, 1988). Las neuronas monoaminérgicas se convierten en una población importante, superando incluso el número de células colinérgicas, a niveles más caudales, en el núcleo parabraquial. (2) Las proporciones de neuronas colinérgicas y monoaminérgicas en el núcleo LDT son 67 y 33%, respectivamente (véanse las Tablas I y III en Jones y Webster, 1988). La mayoría de las monoaminérgicas se localizan en la parte lateral extrema del núcleo LDT, adyacente al locus coeruleus, una región en la que evitamos sistemáticamente registrar neuronas. La repetida afirmación de que el coeruleus del gato contiene un número significativo de células colinérgicas probablemente se deriva de la mezcla de células colinérgicas y monoaminérgicas en el límite entre el LDT y el locus coeruleus (véanse las neuronas teñidas de rojo, no NADPH-diaforasa en la presente Fig. 1.1). (3) Que los elementos monoaminérgicos constituyen una proporción insignificante de neuronas en nuestras muestras lo demuestra el hecho de que sólo 3 células de las 114 muestras de células PB y 27 de células LDT (2%) dejaron de descargar en el sueño REM. Este último rasgo es característico de las neuronas monoaminérgicas del rafe dorsal (McGinty y Harper, 1976; Lydic et al., 1983) y del locus coeruleus (Hobson et al., 1975; Aston-Jones y Bloom, 1981; véanse detalles en Steriade y McCarley, 1990).

Las velocidades de conducción axonal de las proyecciones talámicas pueden...

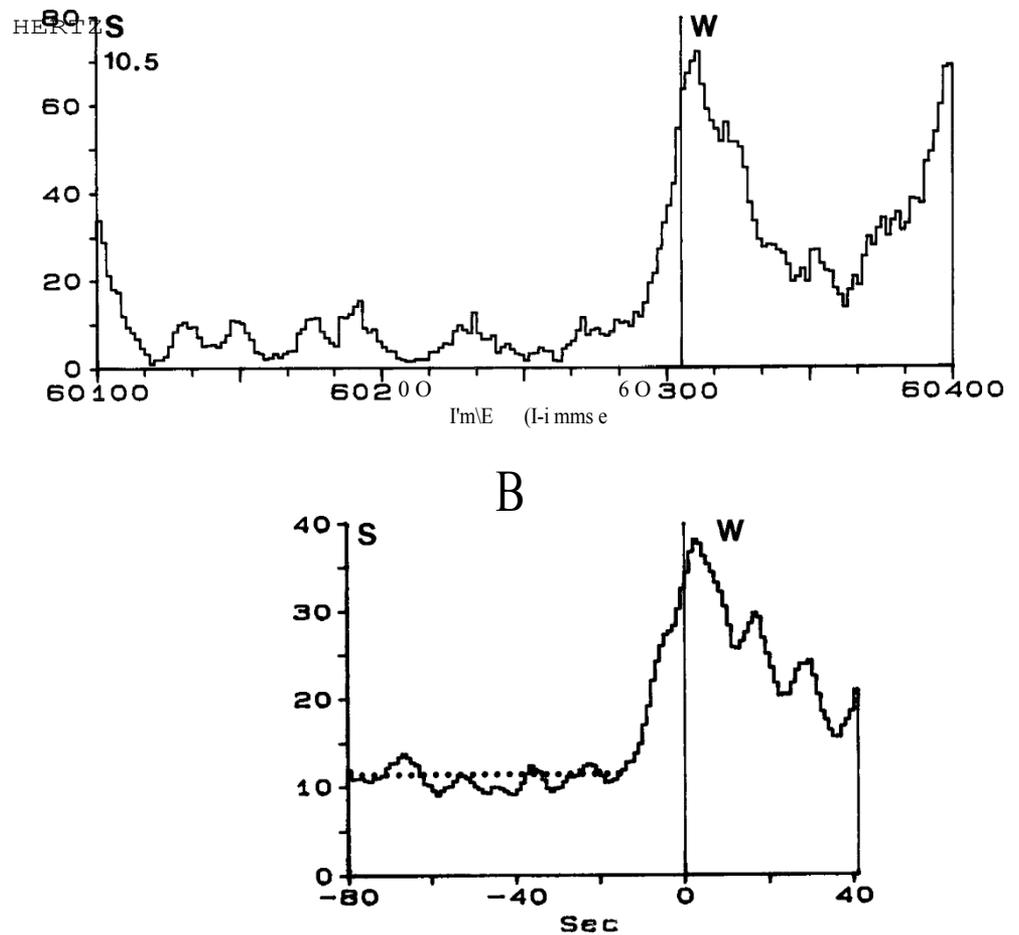


Figura 11. SMFs en una célula PB proyectora talámica (A) y en un grupo de 7 células PB/ LDT (B) durante la transición de S a W. Mismo tipo de gráficos que en las Figuras 9 y 10. La línea discontinua en B indica el nivel de descarga entre -80 y -20 segundos. La línea de puntos en B indica el nivel de descarga entre -80 y -20 seg.

No se puede deducir porque no tenemos pruebas de si estimulamos el axón principal o los terminales axonales y sólo se insertó 1 electrodo de estimulación a lo largo de cada vía de proyección a varios núcleos talámicos. Sin embargo, las estimaciones brutas del histograma de latencias de respuesta antidrómica (Fig. 3B) sugieren que las velocidades de conducción de los axones PB/LDT hacia los núcleos talámicos medial e intralaminar (que oscilan entre 4 y 8 m/seg) son más altas que las que se proyectan hacia los núcleos talámicos reticular y geniculado lateral (1,3-4 m/seg). Las velocidades de conducción inferidas de los axones PB al núcleo geniculado lateral se ajustan a los diámetros axonales (0,3-0,7  $\mu$ m) medidos en un estudio de trazado anterógrado (Uhlrich et al., 1988). Estos valores también concuerdan con datos anteriores que muestran que las latencias de respuesta antidrómica de las neuronas reticulares mesopontinas a la estimulación talámica intralaminar son más cortas que las evocadas por la estimulación geniculada lateral (Ropert y Steriade, 1981; Ahlsén, 1984). Las bajas velocidades de conducción de las neuronas tegmentales mesopontinas que se proyectan al núcleo talámico reticular corroboran las velocidades de conducción en la vía recíproca descendente (Parent y Steriade, 1984).

El gran número de células PB/LDT que estaban sinápticamente El impulso desde el tálamo puede parecer sorprendente, ya que la creencia generalizada es que hay pocos o ningún proce

de las conexiones del tálamo con el tronco encefálico. Debe reconocerse que la estimulación de ciertos núcleos talámicos (por ejemplo, la hoja reticular) puede coactivar axones corticofugales que recorren la cápsula interna adyacente. Asimismo, la estimulación talámica puede activar por reflejo axónico algunos sistemas de fibras que se originan en la médula inferior o en la médula espinal y colateralizan al núcleo PPT. Sin embargo, muchas de estas respuestas ortodrómicas son atribuibles a proyecciones talámicas descendentes que, según se ha demostrado en estudios de transporte retrógrado y anterógrado, se originan en los núcleos intralaminares caudal y rostral (Parent y Steriade, 1981), el complejo talámico reticular (Parent y Steriade, 1984) y la parte ventral del complejo geniculado lateral (Higo et al., 1989).

*Características de descarga de las células T PB/LD: comparación con las neuronas PPT/LDT in vitro y con otras neuronas reticulares del tronco cerebral durante los estados de vigilia y sueño.*

Hemos documentado la tonicidad de las neuronas PB/LDT mediante medidas de primer orden que indican una relación de intervalo medio-modo pequeña y una dispersión relativamente pequeña alrededor del modo. Las neuronas talamocorticales muestran alrededor de un 30% de intervalos más cortos de 5 msec en S (Glenn y Steriade, 1982), un estado en el que disparan selectivamente ráfagas de alta frecuencia; por el contrario, las células PB/LDT muestran menos intervalos cortos de 5 msec en S (Glenn y Steriade, 1982).

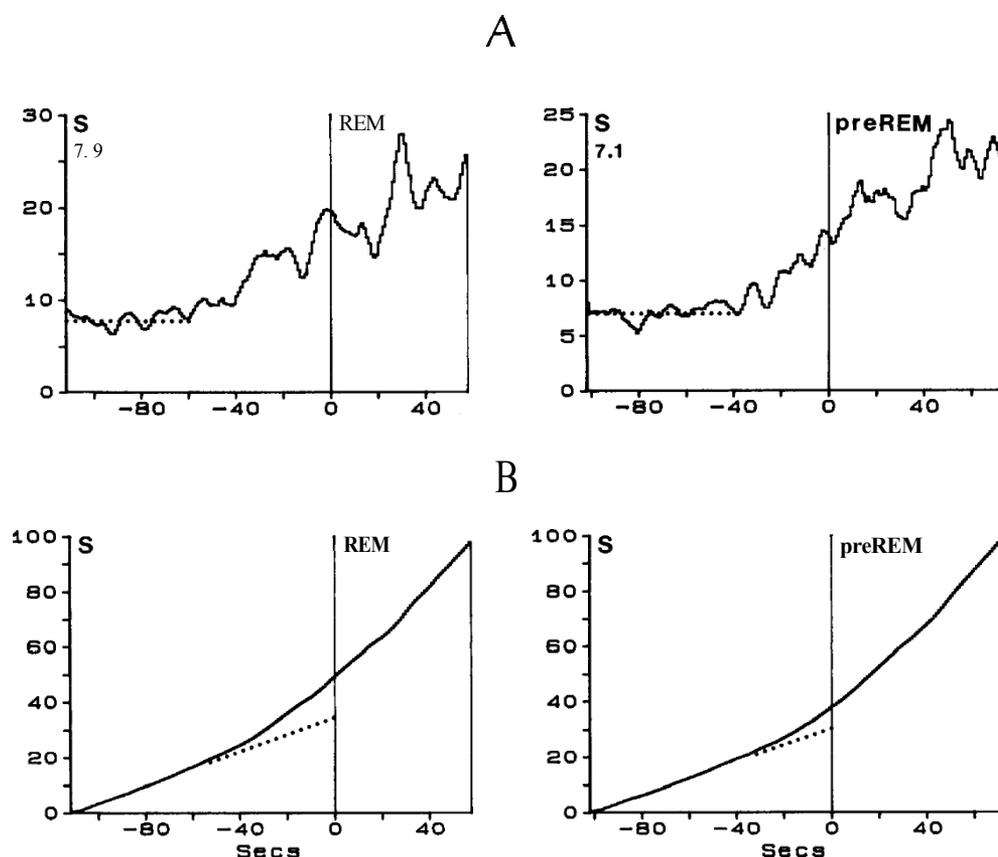


Figura 12. SMFs (A) e histogramas acumulativos (B) en 21 células PB/LDT de proyección talámica durante las transiciones de S a REM y de S a pre-REM. SMFs como en figuras anteriores. Las líneas discontinuas en A y B indican la tasa de descarga en S.

menos del 4% de dichos intervalos en W y S, y menos del 7% en el sueño REM, cuando algunas células tónicas PB/LDT son también elementos PGO-on bursting (véase el siguiente artículo).

La afirmación de que el 75% de las neuronas PB/LDT analizadas en este trabajo son de naturaleza tónica y no suelen mostrar picos de alta frecuencia concuerda bien con los estudios *in vitro* de las neuronas PPT (Leonard y Llinás, 1987, 1990; Kang y Kitai, 1990). Estos autores han informado de que la mayoría de las neuronas colinérgicas, marcadas retrógradamente desde el tálamo antes de preparar los cortes, tienen propiedades intrínsecas muy adecuadas para el disparo repetitivo tónico de una sola espiga descrito en el presente trabajo. En particular, la mayoría de las células PPT no tienen la conductancia de calcio de bajo umbral (LTS) que subyace a las explosiones de picos de alta frecuencia. En su lugar, tienen una conductancia transitoria de potasio hacia el exterior.

Obsérvese, sin embargo, que una submuestra recién descubierta de células PB/LDT descargan ráfagas de espigas de alta frecuencia, que preceden en 20-30 msec a las ondas PGO talámicas, sobre un fondo de *aumento tónico* de la frecuencia de disparo durante el sueño REM; esas neuronas también muestran patrones de descarga tónica durante los estados W y S (Steriade et al., 1990b). Estas ráfagas son obviamente diferentes de las desencadenadas por los LTS, ya que surgen a un nivel relativamente despolarizado. Estas supuestas neuronas de alto umbral, así como las células que sólo muestran LTS en los núcleos PPT (Leonard y Llinás, 1987, 1990; Kang y Kitai, 1990) y LDT (Wilcox et al., 1989), se considerarán en el siguiente artículo, en relación con la transferencia de la señal PGO al tálamo.

We speculate que la conductancia  $\alpha A$  de las neuronas PPT está involucrada en el patrón del comportamiento oscilatorio representado en el

presentan las Figuras 7 y 8. De hecho, los periodos silenciosos entre los trenes de espigas rítmicos se deben presumiblemente a la activación secuencial de  $g_{\text{H}^+}$ - $\alpha A$  por el disparo repetitivo durante los trenes de espigas. Los periodos silenciosos, que conforman el ritmo de los trenes de espigas, desaparecen durante el sueño REM asociado a un aumento de la frecuencia de disparo, similar a la inactivación de  $g_A$  por la despolarización de la membrana.

Ahora compararemos los cambios dependientes del estado en la frecuencia de disparo de las neuronas registradas en los núcleos colinérgicos PB/LDT con los de las neuronas de otros campos reticulares del tronco cerebral.

1. Las características similares son altas tasas ( $> 10$  Hz) de descargas durante ambos estados de desincronización del EEG en la mayoría de los elementos registrados y un aumento en la frecuencia de descarga que precede a la desincronización del EEG en el sueño W o REM. Las neuronas reticulares del mesencéfalo rostral de proyección talámica aumentan su frecuencia de descarga 15 segundos antes de la desincronización del EEG al despertar del S (Steriade et al., 1982) y las neuronas bulbotalámicas del campo magnocelular aumentan su frecuencia de descarga al menos 30 segundos antes de la desincronización del EEG en el sueño REM (Steriade et al., 1984). Se desconocen los neurotransmisores utilizados por las neuronas del mesencéfalo rostral y bulbotálamo reticular. La excitación de corta latencia de las neuronas talamocorticales intralaminares del núcleo rostral del mesencéfalo (Steriade y Glenn, 1982), donde prácticamente no hay células colinérgicas o noradrenérgicas, sugiere que los aminoácidos excitatorios pueden estar implicados en este tipo de activación talámica desde el núcleo del mesencéfalo.

2. Las células PB/LDT difieren de otras células reticulares del tronco cerebral neuronas con respecto al curso temporal del aumento de la actividad neuronal durante los cambios del estado de S al EEG-desincronizado.

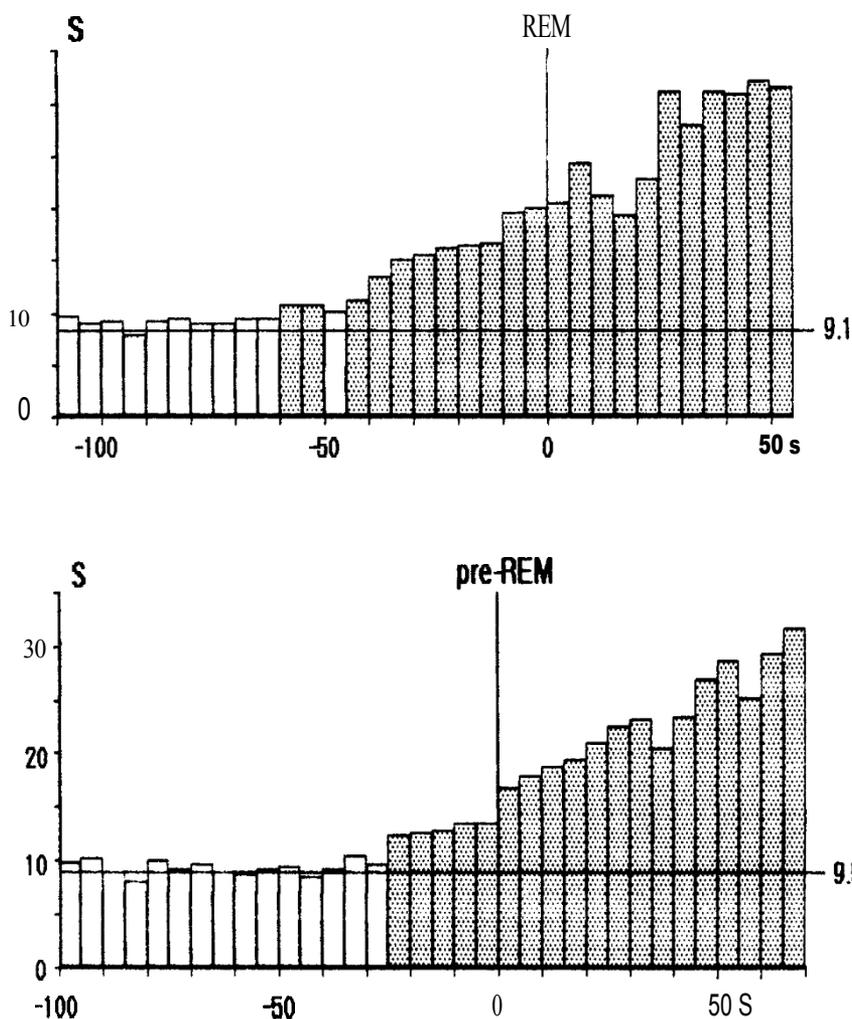


Figura 13. Pruebas estadísticas en un grupo de 21 células PB/LDT de proyección talámica que muestran un aumento de la frecuencia de disparo 60 segundos antes de la desincronización del EEG en el sueño REM y un aumento de la frecuencia de disparo 25 segundos antes de la primera onda PGO que marca el inicio de la época de transición pre-REM. Las columnas sombreadas de 5 segundos indican los intervalos con un aumento estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) de las frecuencias de disparo (véanse Materiales y Métodos).

estados. Nuestros estudios anteriores sobre las neuronas del mesencéfalo rostral (Steriade et al., 1982) y reticulares bulbares (Steriade et al., 1984) han revelado signos precursores de aumento de la actividad que anuncian el sueño W o REM, respectivamente. Los datos actuales sobre las neuronas PB/LDT indican que su actividad aumentada precede de forma fiable tanto a las transiciones de S a W como de S a sueño REM, y que una actividad disminuida precede a los primeros signos de sincronización EEG durante la transición de W a S. Un estudio reciente también ha informado de un aumento de la actividad de las neuronas PB/LDT. Un estudio reciente también ha informado de un aumento de la frecuencia de disparo de las neuronas reticulares presuntamente colinérgicas del tronco cerebral antes del inicio de la desincronización del EEG durante el sueño REM; el aumento de la frecuencia se produjo después de la aparición de las ondas PGO (El Mansari et al., 1989). Este aspecto es similar a nuestros datos anteriores sobre las neuronas reticulares bulbotalámicas (véase la figura 10 en Steriade et al., 1984). Dado que algunos de los elementos REM-on en los núcleos PB/LDT también son PGO-on, realizamos un análisis separado en el presente estudio y proporcionamos pruebas de que el aumento de la frecuencia de disparo de las células PB/LDT precede en 25 s a las primeras ondas PGO durante la transición del sueño S al REM.

El pequeño grupo de neuronas PB/LDT ( $n = 29$ ) que descargan a bajas frecuencias ( $< 2$  Hz) durante W merece una mención especial, ya que esas neuronas, a diferencia de todas las demás neuronas reticulares del tronco encefálico de proyección talámica, aumentaron de forma estadísticamente significativa.

En este último estadio, las descargas espontáneas alcanzaron niveles entre 5 y 10 veces superiores a los de las fases S y W. Este aumento progresivo de la actividad a lo largo del ciclo vigilia-sueño es al que muestran las neuronas del rafe dorsal (McGinty y Harper, 1976; Trulson y Jacobs, 1979; Lydic et al., 1983). Nos referimos únicamente a las neuronas del rafe dorsal, entre otras neuronas monoaminérgicas con un comportamiento similar durante el ciclo vigilia-sueño, porque recientemente se ha descrito una acción inhibitoria manifiesta de la serotonina sobre las células colinérgicas PPT premeditadas en rodajas de cerebro medio y en el cerebro aislado/perfundido (Khateb et al., 1989). Es posible entonces que las imágenes recíprocas de las neuronas PB/LDT y del rafe dorsal reflejen la desinhibición progresiva de las neuronas PB/LDT con la transición del sueño W al S y al REM.

*Papel desempeñado por las neuronas de los núcleos colinérgicos PB/LDT en los procesos de activación tónica ascendente*

La demostración de que los signos precursores del aumento de la actividad neuronal en los núcleos colinérgicos PB/LDT anuncian el paso del sueño sincronizado con el EEG al sueño W o REM plantea interrogantes sobre los acontecimientos que tienen lugar durante los largos periodos (20-60 segundos) que preceden al inicio de la desincronización del EEG. Cabe destacar que estas cifras representan

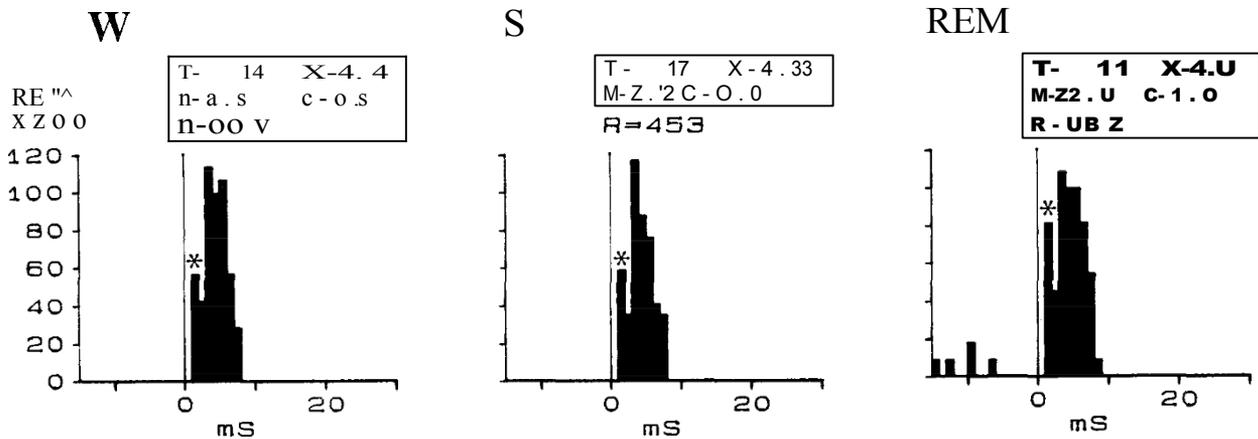


Figura 14. Aumento de la respuesta antidrómica de la célula PB durante el sueño REM. Arriba, espiga evocada antidrómica desde el tálamo lateral (asterisco), seguida de una ráfaga de alta frecuencia de descargas elicidas sinápticamente (nótese la fragmentación de la espiga durante la ráfaga). Debajo del barrido único, se representa una superposición de 3 trazas para mostrar la presencia de la ráfaga de alta frecuencia incluso cuando falla la invasión antidrómica. Abajo, histogramas de perestímulos (intervalos de 1 mseg) durante los estados de vigilia-sueño. Picos antidrómicos en los intervalos marcados con asteriscos. Símbolos: T, número de ensayos; I, latencia media; M, modo de latencia; C, coeficiente de variación; A, capacidad de respuesta definida como los recuentos totales en el intervalo representado divididos por el número de ensayos y expresada como porcentaje.

en neuronas agrupadas y que se ha observado un continuo de tiempos de espera en varias neuronas, desde 140 segundos hasta 3 segundos. Es probable que se produzca un proceso de reclutamiento en las redes del tronco encefálico antes de que aparezcan signos evidentes de cambios en la actividad EEG bruta. Estudios extra e intracelulares de neuronas reticulares del cerebro medio (Ropert y Steriade, 1981) y pontino (Ito y Mc Carley, 1987; McCarley et al., 1987) en preparaciones de comportamiento no anestesiadas han llegado a la conclusión de que más del 90% de las respuestas neuronales del tronco cerebral a la estimulación cercana y lejana dentro del núcleo del tronco cerebral son excitatorias.

en la naturaleza. Esto sugiere que una cascada de acontecimientos excitatorios dentro de las redes del tallo cerebral prepara el momento en que una masa crítica de neuronas que proyectan talámicas logran ejercer sus acciones sobre las células talámicas.

Las acciones de las neuronas colinérgicas mesopontinas sobre el tálamo se conocen a partir de estudios *in vitro* que utilizan aplicaciones de agonistas colinérgicos y de experimentos *in vivo* que utilizan grabaciones intracelulares en preparaciones bajo anestésicos (distintos de los barbitúricos) que no impiden la excitación colinérgica directa de las neuronas talamocorticales. Los efectos de la acetilcolina

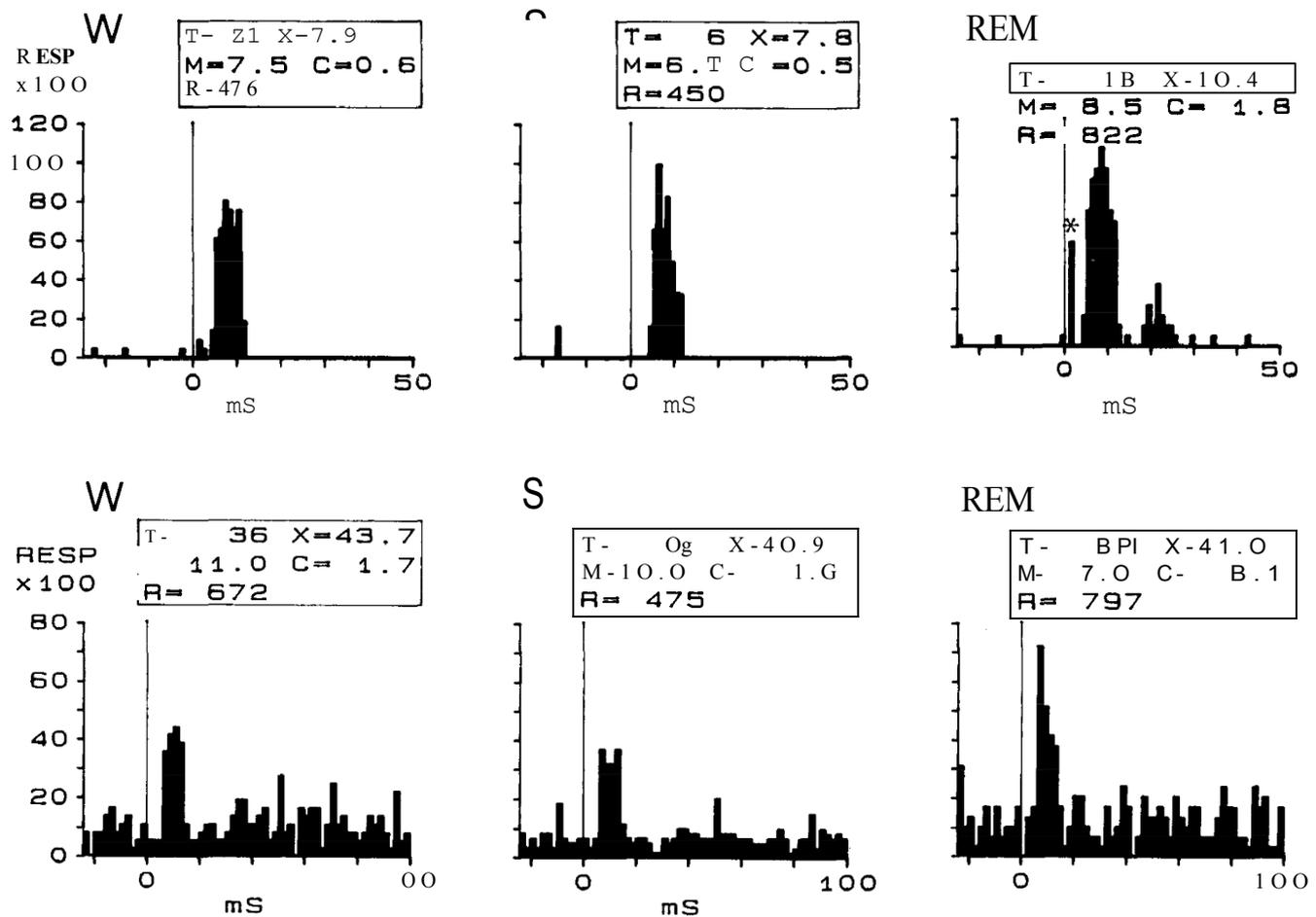


Figura 15. Excitabilidad antidrómica y sináptica de las neuronas PB durante los estados de vigilia-sueño. A, Activación antidrómica (sólo durante el sueño REM, casilla marcada con asterisco) y excitación sináptica desde 1 de los electrodos talámicos intermedios. B, Excitación sináptica desde el tálamo lateral. Mismos símbolos que en la figura 14.

(ACh) en las células de relevo talámicas gato consisten en una rápida excitación nicotínica asociada a un aumento de la conductancia de membrana, seguida de una lenta despolarización muscarínica asociada a un aumento de la resistencia de entrada (McCormick y Prince, 1987; McCormick, 1990). La excitación nicotínica temprana puede ser la base de las ondas PGO talámicas (Hu et al., 1989b), discutidas en el siguiente artículo, pero no puede explicar la activación de larga duración implicada en el proceso duradero de desincronización del EEG y en el aumento prolongado de la eficacia sináptica de las células talamocorticales (Paré et al., 1990). Una despolarización de mayor latencia y duración (2-6 segundos) de las células de relevo geniculadas laterales fue provocada después de la excitación nicotínica temprana mediante la estimulación del área PB (véase la figura 11 en Steriade y Deschênes, 1988). Recientemente, hemos observado que la estimulación de PB y LDT evocaba una despolarización de larga duración (media: 20 seg), asociada a un gran aumento de la resistencia de entrada (40-65%), en una variedad de neuronas talamocorticales, incluidas las de los núcleos anteriores; esta despolarización era simultánea a una desincronización EEG de larga duración (Curró Dossi et al., 1990). Además de la excitación colinérgica directa procedente de los núcleos colinérgicos mesopontinos, las células talamocorticales (distintas de las de los núcleos anteriores

que no reciben entradas talámicas reticulares) sufren un proceso de desinhibición como consecuencia de la potente hiperpolarización de las neuronas talámicas reticulares provocada por la aplicación de ACh *in vitro* (McCormick y Prince, 1986) o por la estimulación del área PB *in vivo* (Hu et al., 1989a).

Así, las neuronas colinérgicas mesopontinas son buenas candidatas para (1) interrumpir las oscilaciones del huso sincronizado en los sistemas talamocorticales durante la excitación y el sueño REM, a través de la inhibición del generador del huso, el núcleo talámico reticular GABAérgico (Steriade et al., 1985, 1987); y (2) activando y desinhibiendo directamente las neuronas talamocorticales, con la consiguiente despolarización de las dianas corticales en territorios corticales circunscritos o difusos, en función de los distintos tipos de proyecciones que surgen en varios núcleos talámicos.

Los núcleos colinérgicos PB/LDT son probablemente los mejores candidatos para una estructura activadora de eventos tónicos y fásicos durante los estados EEG-desincronizados del sueño W y REM. Sin embargo, no son el único sistema implicado en tales acciones. A este respecto, conviene subrayar varias nociones.

1. Aunque las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus despolarizan las células talamocorticales (McCormick y Prince, 1988), con-

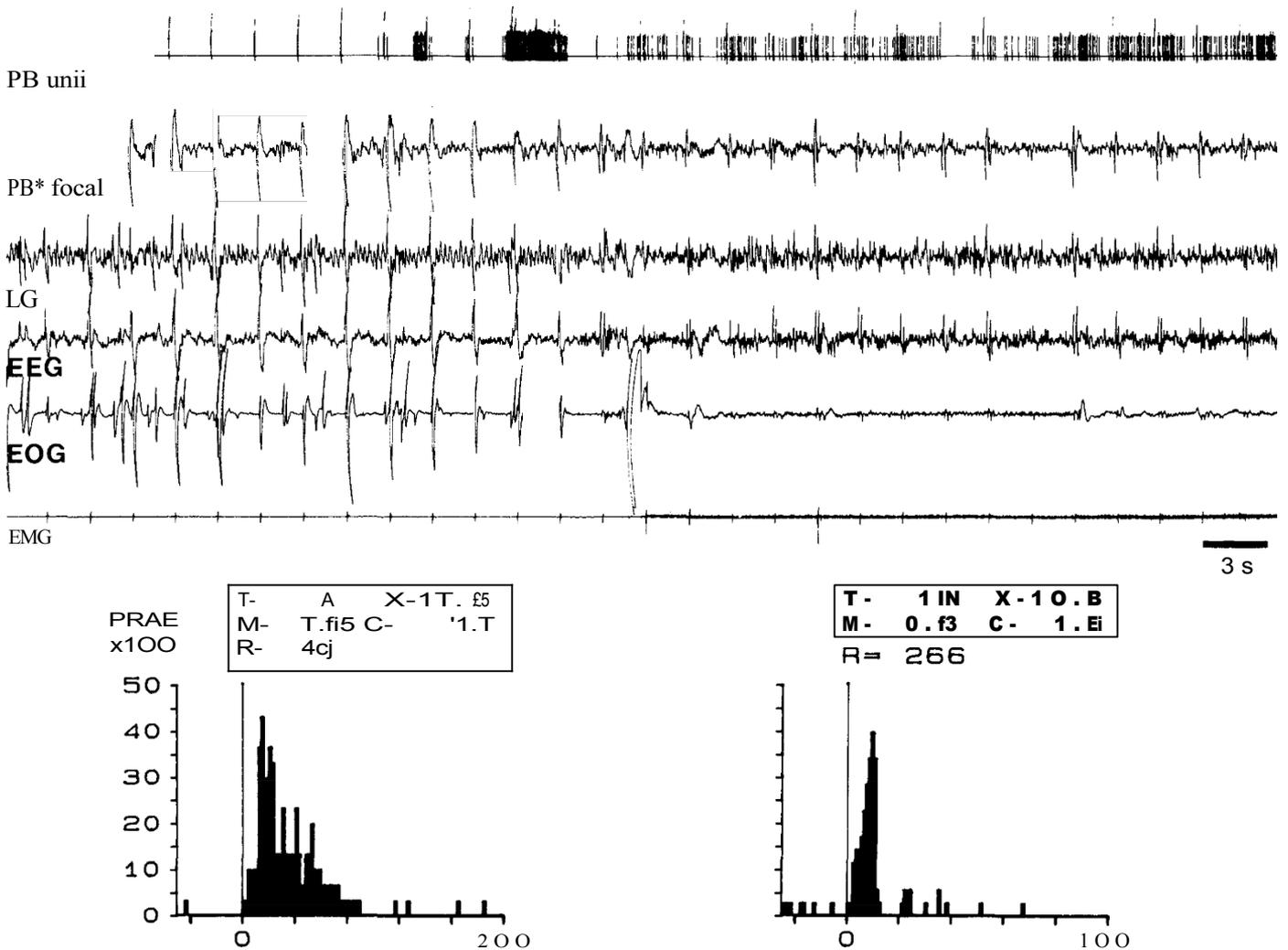


Figura 6. Cambios diferenciales en el disparo espontáneo y la excitabilidad sináptica de una neurona PB dirigida desde el tálamo intralaminar rostral durante el sueño REM y W. Tasas medias de disparo en sueño REM y W: 9,6 y 13 Hz, respectivamente. Símbolos de los histogramas peristimulares como en las figuras precedentes.

Junto con las neuronas colinérgicas mesopontinas, los datos presentados aquí indican que las células PB/LDT son muy activas tanto durante el W como durante el sueño REM, mientras que estudios anteriores han demostrado que las neuronas del locus coeruleus sólo son activas durante el sueño W y dejan de disparar durante el sueño REM (véase más arriba). Así pues, la idea de una acción activadora sinérgica de las neuronas colinérgicas y noradrenérgicas sobre el tálamo es concebible durante el sueño W, pero no durante el sueño REM, cuando sólo está disponible el contingente colinérgico. Las acciones excitatorias de los agonistas colinérgicos aplicados iontopóricamente sobre las neuronas talámicas dependen del estado: sólo se presentan durante la desincronización del EEG en preparaciones agudas (MacLeod et al., 1984) o durante el sueño W y REM, pero no en el S, en animales que se mueven libremente (Marks y Roffwarg, 1989).

2. La desincronización de la actividad del EEG, también denominada activación del EEG debido al aumento simultáneo de la capacidad de respuesta talámica y cortical (véase Steriade et al., 1990a), consta de al menos 2 componentes principales: la interrupción de las oscilaciones del huso que tiene lugar en el tálamo y el bloqueo de las ondas lentas (0,5-4 Hz) o delta de gran amplitud. Hasta la fecha, la

El origen de estas últimas ondas no está dilucidado. La mayoría de las veces se sugiere un origen cortical. En la corteza cerebral, las ondas delta probablemente tienen su origen en procesos inhibitorios sinápticos, pero sobre todo en las corrientes de potasio dependientes del calcio, de muy larga duración (véase Steriade y Buzsaki, 1990). Su interrupción puede realizarse mediante una serie de transmisores utilizados por sistemas neuronales con acceso directo a la corteza cerebral: neuronas colinérgicas del cerebro anterior basal, neuronas histaminérgicas del hipotálamo ventrolateral posterior y neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus. En la actualidad se ha establecido la acción supresora de estos transmisores sobre las corrientes de potasio dependientes del calcio (Reiner y McGeer, 1987; McCormick y Williamson, 1989). El bloqueo de las ondas delta puede contribuir entonces a la plena capacidad de respuesta de los neuronas corticales durante estados conductuales desincronizados con el EEG. Nótese, sin embargo, que la activación EEG no consiste exclusivamente en eventos "negativos", como la interrupción de husos sincronizados y ondas delta. Se han detectado ondas rápidas (40-45 Hz) y actividades multiunitarias en diferentes áreas corticales durante estados de alta vigilancia (Bouyer et al., 1987) o han sido evocadas por la activación EEG.

estímulos visuales óptimos (Gray y Singer, 1989). *In vitro* el evento subyacente de las oscilaciones corticales subumbrales sostenidas a 38-45 Hz parece ser una conducta de sodio dependiente de voltaje (Linäs y Grace, 1989). En consonancia con la idea de que este ritmo rápido forma parte del complejo cuadro de la activación EEG, recientemente hemos evocado oscilaciones corticales de 40 Hz estimulando núcleos colinérgicos PB y LDT tras lesiones excitotóxicas de la perikarya basal del cerebro anterior (Curro Dossi et al., 1990). Nuestros resultados indicaron que el ritmo de 40 Hz fue inducido a través de las proyecciones colinérgicas cerebroesternales que conducen a las neuronas talamocorticales, ya que fue abolido por bloqueantes muscarínicos.

3. La existencia de múltiples sistemas implicados en varios componentes de la desincronización del EEG (interrupción de los husos o de las ondas delta) y el hecho de que los territorios reticulares cerebrales con transmisores aún no identificados (por ejemplo, el núcleo rostral del mesencéfalo) también activan las neuronas talamocorticales explican el fracaso que nosotros y otros hemos experimentado al intentar interrumpir completamente la desincronización del EEG durante largos periodos de tiempo. Las lesiones excitotóxicas de la formación reticular del mesencéfalo rostral han ido seguidas de un periodo de 2-4 d de aumento significativo de S a expensas de W, asociado a una sincronización continua del EEG y a la sustitución de las reacciones desincronizadoras tónicas por otras fásicas, de duración bastante corta (Steriade, 1983). Tras el mismo tipo de lesiones en el tegumento mesopontino, con una pérdida media de células inmunorreactivas ChAT del 60%, los animales se comportaban de forma normal durante la fase W y la desincronización del EEG no se interrumpía en la fase W ni en el sueño REM (Webster y Jones, 1988). Estos resultados pueden deberse a la función compensatoria de las estructuras que permanecen intactas. Incluso si las lesiones combinadas de 2 estructuras activadoras separadas no alteran el comportamiento W bruto y la desincronización EEG asociada, la recuperación sería atribuible a otro de los múltiples sistemas implicados en esta función. Por ejemplo, la ausencia de alteración de W tras lesiones celulares tanto en el núcleo rostral del mesencéfalo como en el hipotálamo posterior del gato (Denoyer et al., 1989) se explica por el hecho de que dichas lesiones se extendían desde los niveles estereotóxicos A2 a A6, y la mayor parte de las neuronas colinérgicas mesopontinas (de A1 a P3) se dejaron intactas. Vale la pena mencionar en contexto de las funciones compensatorias de los sistemas intactos que, después de los pocos días durante los cuales se abolieron la desincronización W y EEG tras la lesión excitotóxica del núcleo rostral del mesencéfalo, siguió un periodo de aumento de W, lo que sugiere una supersensibilidad a la denervación de las estructuras del cerebro anterior que reciben entradas de otros sistemas activadores (Steriade, 1983).

Estas consideraciones nos llevan a enfatizar la noción de sistemas destribuidos cuando intentamos revelar los sustratos de las funciones globales, como la desincronización EEG y W. Tenemos 2 observaciones finales sobre estos 2 términos, generalmente empleados de forma bastante laxa. En primer lugar, cuando se investigan los cambios en la desincronización del EEG tras la lesión de uno u otro sistema activador, hay que tener en cuenta que (1) existen al menos 2 tipos de ondas sincronizadas (husos y ondas delta); (2) estas ondas tienen distintos lugares de origen (tálamo y corteza); (3) diferentes sistemas moduladores ascendentes que utilizan distintos neurotransmisores tienen acceso prevalente al tálamo o a la corteza cerebral; y (4) el tálamo y la corteza cerebral tienen acceso prevalente a diferentes sistemas moduladores ascendentes que utilizan distintos neurotransmisores.

(4) la sincronización o desincronización no puede estimarse sin análisis separados de los espectros de potencia de varios ritmos EEG. En segundo lugar, al utilizar el término W, debemos ser conscientes de que el repertorio W conductual de los animales utilizados para estudiar las actividades neuronales a lo largo del ciclo vigilia-sueño es muy pobre, por no decir más. Esto se refiere no sólo a los animales con la cabeza inmovilizada, sino también a los animales con la cabeza inmovilizada.

también a los animales investigados en condiciones de "movimiento libre". De hecho, examinamos eventos electrográficos brutos, tomados como característicos de W, pero dejamos de lado la compleja realidad de este estado heterogéneo. Sólo después de someter a los animales a diversas tareas de comportamiento atento y comprobar su capacidad de respuesta a diferentes estímulos, incluidos los procesos de inhibición esculpida que son necesarios para un cerebro bien sintonizado, pudimos concluir que uno u otro sistema activador ascendente no es indispensable, porque su lesión no perturbó el comportamiento W. La disección del estado W mediante tareas de atención es una cuestión de futuras investigaciones de las actividades neuronales en varios sistemas activadores ascendentes.

## Referencias

- Ahlsén G (1984) Brain stem neurons with differential projections to functional subregions of the dorsal lateral geniculate complex in the cat. *Neurociencia* 12:817-838.
- Aston-Jones G, Bloom FE (1981) Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 1:876-886.
- Bouyer JJ, Montaron MF, Vahné IM, Albert MP, Rougeul A (1987) Anatomical localization of cortical beta rhythms in cat. *Neurociencia* 22:863-869.
- Buzsáki G, Bickford RG, Ponomareff G, Thal LJ, Mandel R, Gage FH (1988) Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. *J Neurosci* 8:4007-4026.
- Curro Dossi R, Paré D, Steriade M (1990) Nicotinic and muscarinic depolarizing responses of thalamocortical cells to stimulation of brainstem cholinergic nuclei. *Soc Neurosci Abstr* 16 (en prensa).
- Denoyer M, Buda C, Jouvet M (1989) La destruction des perikaryas de la formation réticulée mésencéphalique et de l'hypothalamus postérieur n'entraîne pas de troubles majeurs de l'éveil chez le chat. *CR Acad Sci Paris* 309:265-274.
- El Mansari M, Sakai K, Jouvet M (1989) Unitary characteristics of presumptive cholinergic tegmental neurons during the sleep-waking cycle in freely moving cats. *Exp Brain Res* 76:519-529.
- Glenn LL, Steriade M (1982) Discharge rate and excitability of cortically projecting intralaminar thalamic neurons during waking and sleep states. *J Neurosci* 2:1387-1404.
- Gray CM, Kiang P, Engel AK, Singer W (1989) Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* 338:324-337.
- Hallanger AE, Levey AI, Lee HJ, Rye DB, Wainer BH (1987) The origins of cholinergic and other subcortical afferents to the thalamus in the rat. *J Comp Neurol* 262:105-124.
- Higo S, Ito K, Fuchs D, Rye D, Wainer B, McCarley RW (1989) Topography of pedunculopontine tegmental nucleus (PPT) interconnections with the lateral geniculate nucleus (LGN) and n. prepositus hypoglossi (PH) in the cat. *Soc Neurosci Abstr* 15:409.
- Hobson JA, McCarley RW, Wyzinski PW (1975) Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge in two brain stem neuronal groups. *Science* 189:55-58.
- Hu B, Steriade M, Deschênes M (1989a) The effects of brainstem peribrachial stimulation on perigeniculate neurons: the blockage of spindle waves. *Neuroscience* 31:1-12.
- Hu B, Steriade M, Deschênes M (1989b) The cellular mechanisms of thalamic ponto-geniculo-occipital (PGO) waves. *Neuroscience* 31:25-35.
- Ito K, McCarley RW (1987) Physiological studies of brainstem reticular connectivity. I. Responses of mPRF neurons to stimulation of bulbar reticular formation. *Brain Res* 409:97-110.
- Jones BE, Cuello AC (1989) Afferents to the basal forebrain cholinergic cell area from pontomesencephalic-catecholamine, serotonin, and acetylcholine -neurons. *Neuroscience* 31:37-61.
- Jones BE, Webster HH (1988) Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. I. Efectos sobre la innervación colinérgica del cerebro. *Brain Res* 451:13-32.
- Kang Y, Kitai ST (1990) Electrophysiological properties of pedunculopontine neurons and their postsynaptic responses following stimulation of substantia nigra reticulata. *Brain Res* (en prensa).
- Khateb A, Serafin M, Muhlethaler M (1989) Midbrain reticular neu-

- rones *in vitro* son sensibles a las aminos y a los opiáceos. Soc Neurosci Abstr 15:451.
- Leonard CS, Llinás R (1987) Low-threshold calcium conductance in parabrachial reticular neurons studied *in vitro* and its blockade by octanol. Soc Neurosci Abstr 13:1012.
- Leonard CS, Llinás RR (1990) Electrophysiology of mammalian pedunculopontine and laterodorsal tegmental neurons *in vitro*: implications for the control of REM sleep. In: Brain cholinergic systems (Steriade M, Biesold D, eds), pp 205-223. New York: Steriade M, Biesold D, eds. New York: Oxford UP.
- Livingstone MS, Hubel DH (1981) Effects of sleep and arousal on the processing of visual information in the cat. Nature 291:554-561.
- Llinás R, Grace AA (1989) Intrinsic 40 Hz oscillatory properties of layer IV neurons in guinea pig cerebral cortex *in vitro*. Soc Neurosci Abstr 15:660.
- Lytic R, McCarley RW, Hobson JA (1983) The time course of dorsal raphe discharge, PGO waves, and muscle tone averaged across multiple sleep cycles. Brain Res 274:365-370.
- MacLeod NK, James TA, Starr MS (1984) Muscarinic action of acetylcholine in the rat ventromedial thalamic nucleus. Exp Brain Res 55:553-561.
- Marks GA, Roffwarg HP (1989) The cholinergic influence upon rat dorsal lateral geniculate nucleus is dependent on state of arousal. Brain Res 494:294-306.
- McCarley RW, Ito K, Rodrigo-Angulo ML (1987) Physiological studies of brainstem reticular connectivity, II. Responses of mPRF neurons to stimulation of mesencephalic and contralateral pontine reticular formation. Brain Res 409:111-127.
- McCormick DA (1990) Mecanismos celulares del control colinérgico de la excitabilidad neuronal neocortical y talámica. En: Brain cholinergic systems (Steriade M, Biesold D, eds), pp 236-264. New York: Oxford UP.
- McCormick DA, Prince DA (1986) Acetylcholine induces burst firing in thalamic reticular neurons by activating a potassium conductance. Nature 319:402-405.
- McCormick DA, Prince DA (1987) Actions of acetylcholine in the guinea pig and cat medial and lateral geniculate nuclei. J Physiol (Lond) 392:147-165.
- McCormick DA, Prince DA (1988) Noradrenergic modulation of firing pattern in guinea pig and cat thalamic neurons *in vitro*. J Neurophysiol 59:978-996.
- McCormick DA, Williamson A (1989) Convergencia y divergencia de la acción de los neurotransmisores en la corteza cerebral humana. Proc Natl Acad Sci USA 86:8098-8102.
- McGinty DG, Harper RW (1976) Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats. Brain Res 101:569-575.
- Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). Neuroscience 10:1185-1201.
- Moruzzi G (1972) El ciclo sueño-vigilia. Ergeb Physiol 64:1-165.
- Paré D, Smith Y, Parent A, Steriade M (1988) Projections of upper brainstem cholinergic and non-cholinergic neurons of cat to intralaminar and reticular thalamic nuclei. Neuroscience 25:69-88.
- Paré D, Steriade M, Deschênes M, Bouhassira D (1990) Prolonged enhancement of anterior thalamic synaptic responsiveness by stimulation of a brain stem cholinergic group. J Neurosci 10:20-33.
- Parent A, Steriade M (1981) Afferents from the periaqueductal gray, medial hypothalamus and medial thalamus to the midbrain reticular core. Brain Res Bull 7:411-418.
- Parent A, Steriade M (1984) Midbrain tegmental projections of nucleus reticularis thalami of cat and monkey: a retrograde transport and antidromic invasion study. J Comp Neurol 229:548-558.
- Reiner PB, McGeer EG (1987) Electrophysiological properties of cortically projecting histamine neurons of the rat hypothalamus. Neurosci Lett 73:43-47.
- Ropert N, Steriade M (1981) Input-output organization of midbrain reticular core. J Neurophysiol 46:17-31.
- Smith Y, Paré D, Deschênes M, Parent A, Steriade M (1988) Cholinergic and non-cholinergic projections from the upper brainstem core to the visual thalamus in the cat. Exp Brain Res 70:166-180.
- Steriade M (1983) Mecanismos celulares de la vigilia y el sueño. En: Sleep mechanisms and functions in humans and animals: an evolutionary perspective (Mayes A, ed), pp 161-216. Wokingham, Reino Unido: Van Nostrand Reinhold.
- Steriade M, Buzsáki G (1990) Parallel activation of thalamic and cortical neurons by brainstem and basal forebrain cholinergic systems. En: Brain cholinergic systems (Steriade M, Biesold D, eds), pp 3-62. Nueva York: New York: Oxford UP.
- Steriade M, Deschênes M (1988) Intrathalamic and brainstem-thalamic networks involved in resting and alert states. En: Cellular thalamic mechanisms (Bentivoglio M, Spreafico R, eds), pp 36-62. Amsterdam: Elsevier.
- Steriade M, Glenn LL (1982) Neocortical and caudate projections of intralaminar thalamic neurons and their synaptic excitation from the midbrain reticular core. J Neurophysiol 48:352-371.
- Steriade M, Hobson JA (1976) Neuronal activity during the sleep-cycle de vigilia. Progr Neurobiol 6:155-376.
- Steriade M, McCarley RW (1990) Brainstem control of wakefulness and sleep. New York: Plenum.
- Steriade M, Deschênes M, Oakson G (1974) Inhibitory processes and interneuronal apparatus in motor cortex during sleep and waking. I. Disparo de fondo y capacidad de respuesta de las neuronas del tracto piramidal. J Neurophysiol 37:1065-1092.
- Steriade M, Oakson G, Ropert N (1982) Firing rates and patterns of midbrain reticular neurons during steady and transitional states of the sleep-waking cycle. Exp Brain Res 46:37-51.
- Steriade M, Sakai K, Jouvet M (1984) Bulbo-thalamic neurons related to thalamocortical activation processes during paradoxical sleep. Exp Brain Res 54:463-475.
- Steriade M, Deschênes M, Domich L, Mülle C (1985) Abolition of spindle oscillations in thalamic neurons disconnected from the nucleus reticularis thalami. J Neurophysiol 54:1473-1497.
- Steriade M, Domich L, Oakson G, Deschênes M (1987) The deafferented reticularis thalami nucleus generates spindle rhythmicity. J Neurophysiol 57:260-273.
- Steriade M, Paré D, Parent A, Smith Y (1988) Projections of cholinergic and non-cholinergic neurons of the brainstem core to relay and associational thalamic nuclei in the cat and macaque monkey. Neuroscience 25:47-67.
- Steriade M, Jones EG, Llinás RR (1990a) Thalamic oscillations and signaling. New York: Wiley.
- Steriade M, Paré D, Datta S, Oakson G, Curró Dossi, R (1990b) Different cellular types of ponto-geniculo-occipital waves. J Neurosci 10:2560-2579.
- Trulsson ME, Jacobs BL (1979) Raphe unit activity in freely moving cats: correlation with level of behavioral arousal. Brain Res 163:135-150.
- Uhlrich DJ, Cucchiari JB, Sherman SM (1988) The projection of individual axons from the parabrachial region of the brain stem to the dorsal lateral geniculate nucleus in the cat. J Neurosci 8:4565-4575.
- Vincent SR, Reiner PB (1987) The immunohistochemical localization of choline acetyltransferase in the cat brain. Brain Res Bull 18:371-415.
- Vincent SR, Satoh K, Armstrong DM, Fibiger HC (1983) NADPH-d: a selective histochemical marker for the cholinergic neurons of the pontine reticular formation. Neurosci Lett 43:31-36.
- Webster HH, Jones BE (1988) Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II. Efectos sobre los estados de sueño y vigilia. Brain Res 458:285-302.
- Wilcox KS, Grant SJ, Burkhart BA, Cristoph GR (1989) *In vitro* electrophysiology of neurons in the lateral dorsal tegmental nucleus. Brain Res Bull 22:557-560.
- Woolf NJ, Butcher LL (1986) Cholinergic systems in the rat brain. III. Proyecciones del tegmento pontomesencefálico al tálamo, tectum, ganglios basales y cerebro anterior basal. Brain Res Bull 16:603-637.