

¿Cómo se despierta el cerebro? El soplo del óxido nítrico

J. Mariño, J. Cudeiro

HOW DOES THE BRAIN WAKE UP? THE NITRIC OXIDE BLOW

Summary. Introduction. A synthesis of the role of the neuromodulator nitric oxide (NO) on the sleep-wake cycle control is made, emphasizing the function of the activating ascending pathways implicated in arousal. Development. There are some hypotheses regarding the role of sleep: memory consolidation, ecological factors, cellular repair and nervous system development. The sleep-wake cycle is an active process, modulated by subcortical regions (mesopontine nuclei, diencephalon and basal forebrain) with connections and reciprocal interactions among them. NO is released by neurons and terminals of the sleep-wake cycle modulatory nuclei. The role of NO in this cycle is mainly linked to activation processes: transition to and maintenance of waking and rapid eye movement (REM) sleep. At thalamic level NO is released by cholinergic fibers of the mesopontine nuclei and induces a facilitation of neural responses. In the basal forebrain there exists NO in the cholinergic cells contacting the cortex, suggesting that this ascending pathway can also collaborate in cortical activation through the release of NO. Conclusions. NO has been identified in neurons of the brain areas controlling the modulation of arousal; hence, this gaseous neuromodulator can have an essential function promoting a quick and global activation of cortical neurons. [REV NEUROL 2006; 42: 535-41]

Key words. Acetylcholine. Arousal. Basal forebrain. Cholinergic. Mesopontine nuclei. Nitric oxide. Sleep. Thalamus. Wake.

INTRODUCCIÓN

El encéfalo humano oscila entre dos estados funcionales muy distintos: la vigilia, durante la cual permanecemos conscientes, y el sueño, que desconecta la corteza cerebral de las entradas sensoriales, nos aísla del mundo exterior y da paso a una actividad neuronal característica, en donde se alternan períodos de sueño con movimiento rápido de los ojos (REM) y períodos de sueño de ondas lentas o no REM (NREM) [1]. Las transiciones entre un estado y otro son activas, es decir, están inducidas por el complicado engranaje que existe entre varias regiones subcorticales y no se deben, como se creía en un principio, a cambios pasivos inducidos, por ejemplo, por el agotamiento –o recuperación– de la actividad nerviosa. Las últimas décadas han sido muy fructíferas en la tarea de descifrar los circuitos, los neurotransmisores y las sustancias moduladoras implicadas en la regulación de este ciclo [1,2]. Se han definido con precisión las regiones anatómicas en las que se encuentran los relojes que sincronizan a las demás neuronas y se ha descubierto el papel de nuevas sustancias neuromoduladoras como la orexina [3] o el óxido nítrico (NO) [4-6]. El NO [7,8] es una sustancia gaseosa que liberan varios grupos neuronales esenciales en el control del estado encefálico global, en su mayoría involucrados en la excitación neuronal durante las transiciones sueño-vigilia y sueño NREM-REM, y en procesos de potenciación de la transmisión sensorial [9]. En el presente trabajo se compendia el conocimiento actual acerca de la función del NO en los procesos de activación que tienen lugar cada mañana en las profundidades de nuestro encéfalo.

Aceptado tras revisión externa: 16.02.06.

Universidad de A Coruña. Neurocom, Departamento de Medicina. Facultad de Ciencias de la Salud. A Coruña, España.

Correspondencia: Dr. Javier Cudeiro. Universidade da Coruña. Neurocom, Departamento de Medicina. Facultad de Ciencias da Saúde. Campus de Oza. E-15006 A Coruña. Fax: +34 981 167 155. E-mail: jcuad@udc.es

© 2006, REVISTA DE NEUROLOGÍA

LA ESCURRIDIZA FUNCIÓN DEL SUEÑO

Antes de abordar los mecanismos de regulación del ciclo sueño-vigilia parece conveniente comentar de manera breve las distintas hipótesis que existen en la actualidad acerca de la función del sueño, un activo campo de discusión en el que todavía quedan muchas preguntas por contestar. La teoría más estudiada, y debatida, es la que sugiere un papel para el sueño en la consolidación de la memoria [10-14]. A pesar de que existen estudios moleculares, celulares, fisiológicos y de comportamiento que apoyan firmemente esta hipótesis [13], algunos de los cuales indican que el sueño no es sólo importante sino esencial para el afianzamiento de la memoria, hay también trabajos críticos que consideran que los efectos sobre la memoria y el aprendizaje pueden ser un epifenómeno derivado, por ejemplo, del estrés inducido por los propios experimentos [11]. Según estos últimos, el papel del sueño en la consolidación de la memoria está todavía a la espera de ser demostrado.

Otro grupo de teorías basa su explicación en factores ecológicos [15,16] y subraya la importancia del sueño en las relaciones de los organismos con el medio en el que viven. El sueño puede tener importancia adaptativa como una manera para conservar energía en determinados momentos del día; según esto, el tiempo de sueño en los distintos animales dependería de diversas variables como la existencia de predadores, el aporte calorífico de la dieta o la relación superficie/masa corporal. Durante el sueño NREM existe también una disminución del estrés oxidativo [17], por lo cual animales con altas tasas metabólicas se verían beneficiados por estos períodos de ‘descanso energético’.

Hay también estudios que indican que el sueño NREM puede ser esencial como un período de tiempo en el cual se produce todo tipo de reacciones y adaptaciones para el mantenimiento del individuo. Entre estas operaciones estarían la reparación y/o la síntesis de nuevos elementos celulares, incluidas neuronas y glía [18,19].

Algunos investigadores proponen que el sueño REM puede tener una importante función durante el desarrollo del sistema

nervioso [20], como sugieren los largos períodos de este tipo de sueño que presentan los mamíferos recién nacidos en comparación con la edad. Sin embargo, la persistencia del sueño REM en los adultos puede indicar también la existencia de otras funciones, entre las que se ha sugerido un papel como preparador para el paso al estado de vigilia, pues entrenaría a los sistemas activadores ascendentes para el momento del despertar.

UN COMPLEJO SISTEMA DE REGULACIÓN

Independientemente de la función –o funciones– del sueño, al final de éste se produce un cambio notable en la actividad encefálica global que conduce a la reaparición del estado consciente. La transición entre ambos estados está regulada cuidadosamente por grupos de neuronas situados en el tronco del encéfalo, el diencéfalo y el prosencéfalo basal [2]. En estas regiones se encuentran los llamados ‘sistemas activadores ascendentes’, cuya actividad aumentada durante el despertar induce una excitación y desincronización de los circuitos talámicos y corticales. Se puede comprobar experimentalmente la eficacia de la activación de estas regiones para inducir sobre los circuitos talamocorticales una transición del sueño de ondas lentas (caracterizado por ondas de baja frecuencia y gran amplitud en el electroencefalograma, EEG, indicativo de la sincronización de enormes grupos de neuronas) a una actividad tónica característica de los estados de vigilia (con ondas de poca amplitud y frecuencias altas; también con la existencia de sincronización neuronal, pero entre grupos celulares menores y más dispersos) [21,22]. La figura 1 muestra dos ejemplos del cambio inducido en la corteza de un gato anestesiado (registros en corteza somatosensorial primaria: S1, y corteza visual primaria: V1) tras la microestimulación eléctrica en la región peribraquial del tronco encefálico (Fig. 1a) y del núcleo basal de Meynert (NB) en el prosencéfalo basal (Fig. 1b) [5]. En este tipo de experimentos la anestesia induce un estado encefálico similar al del sueño NREM y la estimulación eléctrica produce una activación en la corteza semejante a la del sueño REM y la vigilia, por lo que se considera que es un buen modelo para estudiar los mecanismos de la transición sueño-vigilia. La activación que se induce persiste unos segundos (de 2 a 20) y a continuación la actividad retorna gradualmente a sus parámetros iniciales.

En la región mesopontina del tronco encefálico y en el hipotálamo se encuentran los núcleos neuronales cuyo diálogo constante mantiene con precisión la marcha de este ciclo diario de sueño-vigilia. Durante la vigilia hay neuronas de los núcleos mesopontinos que tienen un elevado nivel de actividad: células noradrenérgicas del *locus coeruleus* (LC), células serotoninérgicas de los núcleos del rafe (NR) y células colinérgicas de diversas regiones del tegmento mesopontino (núcleo tegmental pedúnculo-pontino, TPP, núcleo tegmental laterodorsal, TLD, núcleo reticular pontino oral, RPO). Es interesante el hecho de que, durante el sueño REM, muy similar a la vigilia en el EEG, este último grupo de neuronas colinérgicas está igualmente activo, pero no así las células del LC y los NR, cuya actividad va disminuyendo paulatinamente durante el sueño NREM hasta ser mínima duran-

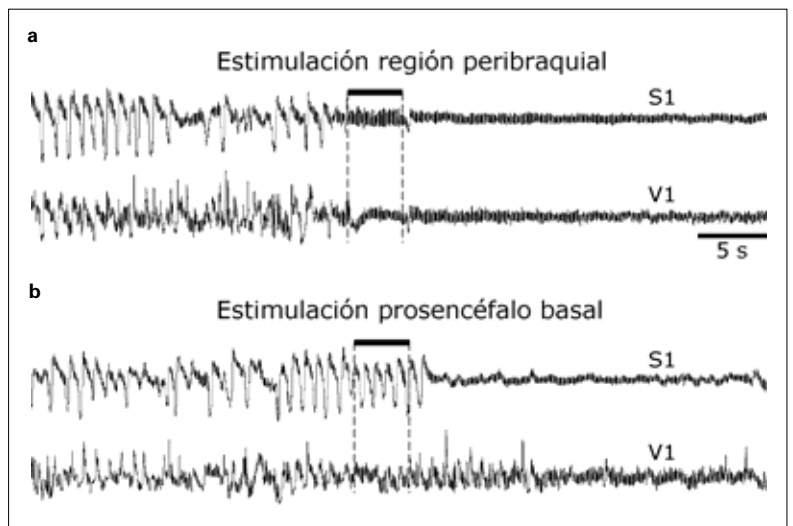


Figura 1. Registros focales electrocorticográficos (ECoG) simultáneos en la corteza somatosensorial primaria (S1) y corteza visual primaria (V1) de un gato anestesiado con ketamina-xilacina. Las barras horizontales indican microestimulación eléctrica con trenes de pulsos (0,05 ms, 0,1-1 mA, 50 Hz) a través de electrodos bipolares situados en la región peribraquial del tronco encefálico (a) y en el núcleo basal de Meynert del prosencéfalo basal (b). En ambos casos se observa que la estimulación en esas regiones activadoras modifica el ECoG para dar lugar a una actividad característica de la vigilia.

te los períodos REM [2,23]. Como se indica de manera muy esquemática en la figura 2, estos núcleos del tronco encefálico envían conexiones al tálamo, hipotálamo, prosencéfalo basal y corteza. El objetivo último de esta inervación masiva activadora es el control de los niveles globales de actividad de la red talamo-corteza-tálamo, lo que en última instancia llevará a regular los niveles de atención consciente [22]. Todos estos núcleos mesopontinos están íntimamente relacionados con el hipotálamo, del cual reciben el control circadiano.

El núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo anterior recibe inervación directa de la retina a través del tracto retinohipotálamico. Esta región es el reloj maestro que, a través de diversas conexiones eferentes, sincroniza a las demás zonas encefálicas [24,25]. En el hipotálamo lateral y posterior se encuentran neuronas orexinérgicas e histaminérgicas, respectivamente, las cuales se activan durante la vigilia; estos dos grupos celulares son importantes para mantener la activación de los núcleos mesopontinos, del prosencéfalo basal y, en última instancia, de la corteza cerebral, regiones todas ellas a las que envían conexiones. El reciente descubrimiento del papel de la orexina en enfermedades como la narcolepsia [3] ha reafirmado la importancia del hipotálamo en el control preciso del ciclo sueño-vigilia y ha abierto la puerta al desarrollo de nuevas estrategias farmacológicas para el tratamiento de algunos trastornos de dicho ciclo. Entre las regiones inervadas por el NSQ está el núcleo preóptico ventrolateral (POVL) del hipotálamo anterior, en donde se encuentran las neuronas implicadas en la promoción de la transición vigilia-sueño [26,27]: neuronas gabérgicas del POVL envían conexiones inhibitorias directas a los núcleos hipotálamicos orexinérgicos e histaminérgicos, así como a los núcleos mesopontinos del tronco y al prosencéfalo basal. Es decir, el POVL genera una orden de inhibición global de todas las regiones activadoras antes mencionadas.

A medio camino entre la corteza cerebral y las regiones hipotálamicas y mesopontinas, que con sus finos engranajes generan los patrones de actividad, se sitúa el prosencéfalo basal. Se

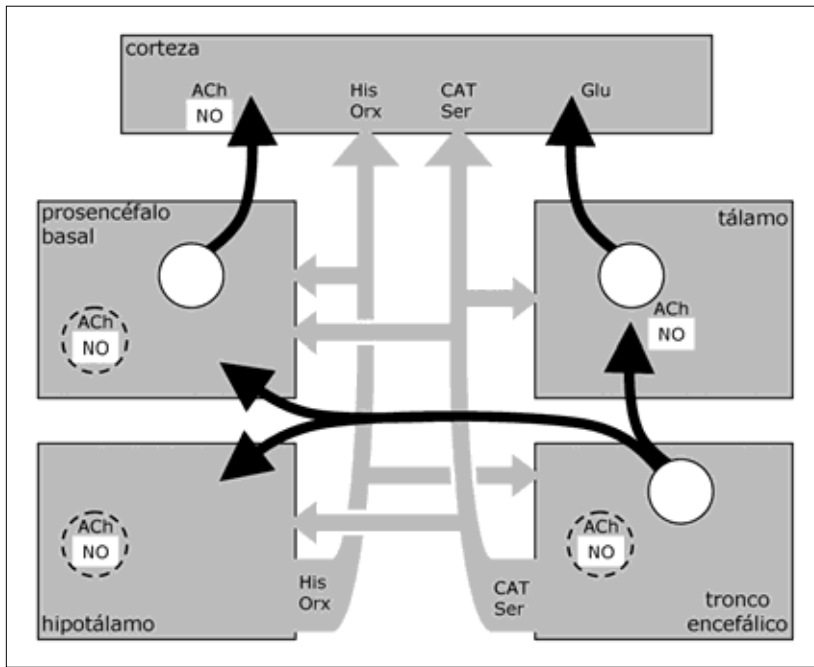


Figura 2. Esquema simplificado que muestra las principales vías ascendentes activadoras y las conexiones entre éstas. Se indican los neurotransmisores/neuromoduladores implicados en cada caso. ACh: acetilcolina, NO: óxido nítrico, His: histamina, Orx: orexina, CAT: catecolaminas, Ser: serotonina, Glu: glutamato. (Más explicaciones en el texto.)

podría decir que esta región funciona en colaboración con el tálamo en la tarea de distribuir a la corteza cerebral las órdenes procedentes de las regiones reguladoras. La disgregación anatómica de los distintos tipos neuronales de esta zona encefálica ha dificultado tanto la adopción de una nomenclatura unitaria como su estudio anatómico y funcional, aunque se conocen relativamente bien las principales conexiones aferentes y eferentes [28,29]. Recibe conexiones catecolaminérgicas (noradrenalina, dopamina), serotoninérgicas y colinérgicas de los núcleos mesopontinos, así como aferencias orexinérgicas, histaminérgicas y gabérgicas procedentes de los núcleos hipotalámicos. Se ha indicado también la existencia de conexiones glutamatérgicas procedentes del TPP y TLD mesopontinos [28]. Las principales conexiones de salida de esta región, en lo que respecta a las vías ascendentes activadoras, están formadas por neuronas colinérgicas y gabérgicas. Los axones de las primeras alcanzan la mayor parte de las regiones neocorticales [30,31], la cual constituye la principal aferencia colinérgica a la corteza. La activación que inducen estas conexiones sobre las células corticales, generando una descarga tónica y un EEG de baja amplitud y frecuencias altas, sugiere que desempeñan un papel importante en la transición al estado de vigilia [5,32], así como en el control de la atención [33,34]. Por otra parte, hay neuronas gabérgicas en el prosencéfalo basal que contactan tanto con la corteza cerebral como con el tálamo [28,35-37]; los trabajos anatómicos han demostrado que en el caso de la corteza las conexiones siempre se realizan con otras neuronas gabérgicas [38], y que en el tálamo estos axones ascendentes contactan con el también gabérgico núcleo reticular talámico [37], por lo que pueden tener una función de cooperación con las células colinérgicas en la promoción de la activación cortical, induciendo una desinhibición tanto del flujo de información a nivel talámico como de las neuronas corticales.

Por lo tanto, en el momento del paso del sueño a la vigilia, la activación que se genera en los núcleos mesopontinos y en el hipotálamo se trasladaría hasta el prosencéfalo basal y de ahí a toda la corteza. El circuito local de conexiones en el prosencéfalo basal está empezando a desvelarse, aunque todavía quedan muchas piezas del rompecabezas por resolver [28,29]. Hay axones noradrenérgicos procedentes del LC que activan células colinérgicas de proyección a la vez que inhiben células gabérgicas locales. También existen entradas procedentes de los NR y del TPP y TLD, aunque sus dianas y efectos no se han establecido con claridad. Las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral (ATV) envían axones al prosencéfalo basal que hacen sinapsis con células colinérgicas [39]; además, dentro de estas rutas supuestamente activadoras, también se ha sugerido que hay células gabérgicas del ATV que contactan con células inhibitoras del propio prosencéfalo basal [28].

La otra gran ruta ascendente es la que discurre a través del tálamo, una región encefálica extensamente estudiada anatómica y funcionalmente [40]. Los núcleos talámicos reciben conexiones colinérgicas, noradrenérgicas y serotoninérgicas de los núcleos mesopontinos, e inervan las distintas regiones corticales a través de neuronas de proyección glutamatérgicas.

EL NO EN EL MAPA DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA

En el esquema descrito en el apartado anterior y representado en la figura 2 se muestra que la acetilcolina (ACh) es una de las sustancias clave en los circuitos encargados de la excitación de las neuronas corticales y regulación de los niveles de conciencia. En las últimas dos décadas se ha descubierto que el gas NO es un colaborador habitual de la ACh: en el sistema activador que nos ocupa ambas sustancias colocalizan en las terminales que, procedentes del tegmento mesopontino, estimulan las neuronas de proyección talámicas [41], así como en las terminales colinérgicas de la proyección cortical procedente del prosencéfalo basal [5,42] (en el caso del NO lo que se detecta en las terminales es la enzima que cataliza su síntesis: la sintasa del óxido nítrico o NOS, ya que el gas NO, una vez formado, difunde con rapidez y además tiene una vida muy corta antes de oxidarse a nitritos y nitratos [7,43]). Es decir, el NO se libera junto con la ACh en dos de las sinapsis clave en la regulación del estado encefálico global. Si estas dos sustancias actúan en paralelo, de manera sinérgica o bien con una relación de dependencia son cuestiones que, como se comentará en los siguientes apartados, están siendo investigadas en la actualidad.

¿Por qué utilizar dos sustancias con un objetivo excitador común en la misma sinapsis? La ACh es un neurotransmisor prototípico que actúa de manera específica en los receptores disponibles en la hendidura sináptica en la que se libera. Sin embargo, esta precisión no es necesaria para la modificación global y sincronizada de los millones de neuronas que se despolarizan en el tálamo y la corteza en, por ejemplo, la transición del sueño a la vigilia. El NO resulta ideal para esta modulación grosera, ya

que, una vez formado en el interior de la terminal sináptica, difunde rápidamente a través de las membranas celulares y actúa de manera no localizada, afectando a una gran cantidad de neuronas circundantes en una esfera de radio entre 150 y 500 μm [7]. Nuestra hipótesis es que esta propiedad confiere al NO un papel fundamental en el momento del despertar, liberándose en el tálamo y la corteza y activando de manera simultánea –o facilitando la activación de– grandes grupos de neuronas, lo cual lleva a un cambio drástico en el EEG, como se muestra en la figura 1.

Los resultados experimentales también indican que el NO ejerce su papel neuromodulador en las otras regiones de control del ciclo sueño-vigilia (círculos discontinuos en la figura 2), aunque los datos que existen en la actualidad son todavía fragmentarios y escasos. Se ha observado en experimentos realizados en gatos que la aplicación mediante microdiálisis de N^G -nitro-L-arginina (LNOArg, un inhibidor de la NOS) en la región pontina produce una disminución de la liberación de ACh en dicha zona [6]; por el contrario, el mismo inhibidor aplicado en la parte lateral del prosencéfalo basal provoca un aumento de la liberación local de ACh [44]. Según esto último, el NO también puede inhibir a las propias neuronas colinérgicas, aunque se desconoce el mecanismo (podría ser directamente o a través de la excitación de neuronas locales gabérgicas que hacen sinapsis con las colinérgicas); sin embargo, y para complicar más el esquema, experimentos similares realizados en ratas indican un aumento de la liberación de ACh en el prosencéfalo basal inducido por el NO [45]. Respecto al hipotálamo, el NO actúa, junto con ACh y melatonina, en la modulación de la actividad del NSQ [46]; este papel sobre el corazón del control circadiano resalta la importancia de este gas en el ciclo sueño-vigilia.

ACTIVACIÓN TALAMOCORTICAL POR NO

La serie de trabajos realizados en la década de los noventa por Cudeiro et al y por Rivadulla et al sentaron las bases del papel del NO en los núcleos talámicos específicos y en el NRT [4, 9,47-51]. Estas investigaciones fueron llevadas a cabo *in vivo* en gatos y se centraron en el sistema visual. El núcleo geniculado lateral dorsal (NGLd) y el núcleo perigeniculado (NPG), que son las regiones visuales del tálamo y del NRT respectivamente, reciben una cantidad importante de aferencias colinérgicas [52] procedentes del PBR, en el tronco encefálico. El efecto global de la ACh es facilitador, al promover el flujo de información hacia la corteza; esto es así porque la ACh excita las neuronas de proyección talamocorticales (NTC) y, simultáneamente, inhibe las neuronas gabérgicas del NRT, las cuales hacen sinapsis sobre las NTC (Fig. 3). Los terminales presinápticos de las neuronas del PBR poseen la enzima NOS [41] y, según sugieren los experimentos citados, liberan NO simultáneamente con la ACh, potenciando la actividad de las neuronas talámicas a través de la facilitación de la excitación mediada por los receptores de tipo NMDA. Estos receptores, que son dependientes de voltaje y de ligando, tienen un papel significativo en la función reguladora

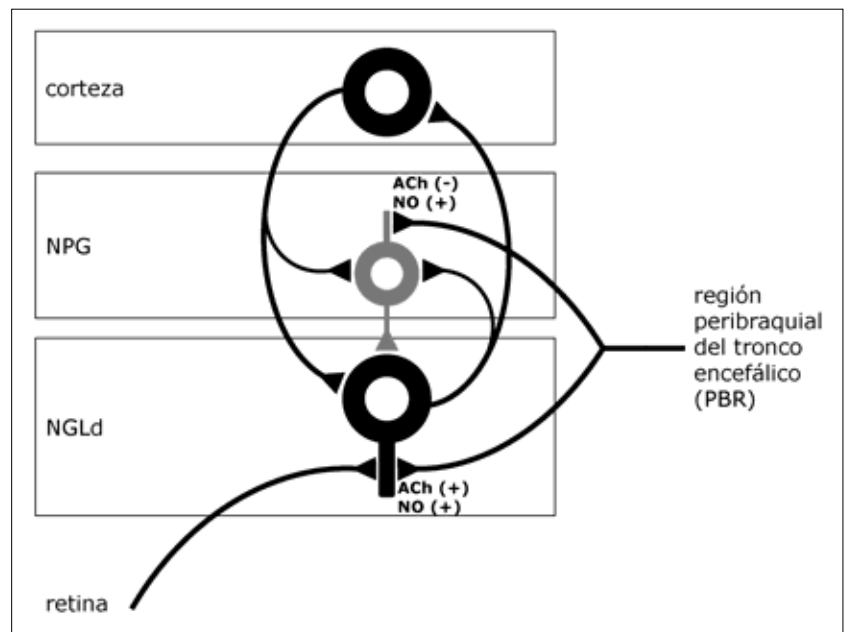


Figura 3. Conexiones de los axones colinérgicos procedentes de la región peribraquial sobre el tálamo visual del gato (núcleo geniculado lateral dorsal: NGLd, y núcleo perigeniculado: NPG). Estos axones hacen sinapsis tanto en neuronas de proyección talamocorticales como en las neuronas gabérgicas del NPG; la ACh tiene efectos opuestos sobre los dos tipos neuronales, sin embargo, el NO produce en ambos casos una excitación.

del tálamo [53] (el tálamo se encarga tanto de seleccionar la información sensorial que sigue su curso hacia la corteza como de redistribuir la información cortical a través del ciclo corteza-tálamo-corteza). Según esto, puede existir una acción combinada de ACh y NO, de tal manera que la ACh se encargaría de producir la despolarización necesaria para llevar a los receptores NMDA a su rango de activación y el NO facilitaría la excitación neuronal actuando sobre dichos receptores. Además de este mecanismo de acción, el NO también podría actuar colaborando con la ACh para potenciar la función sináptica de ésta, algo que explicaría esa tendencia a actuar de manera conjunta que se ha observado en varias regiones [41,54,55]. Independientemente del mecanismo de acción, los distintos enfoques experimentales han demostrado que el NO promueve la excitación de las neuronas talámicas de proyección, por lo que es probable que tenga un papel destacado dentro de las sustancias neuromoduladoras que participan en el ciclo sueño-vigilia, dadas sus características especiales como gas.

En el NPG el efecto del NO resulta contradictorio, ya que es también activador [47], por lo que en esta región tiene un papel opuesto al de la ACh, lo cual parece no encajar bien dentro de un circuito facilitador a nivel talámico. Este hecho puede estar relacionado con una cuestión de precisión e indicar que este gas se libera para provocar una despolarización global e indiscriminada, lo cual puede ser contraproducente para el procesamiento fino de la información, pero puede resultar muy útil para inducir con contundencia y rapidez los cambios de activación que se dan al pasar del estado de sueño a la vigilia, o del sueño NREM al sueño REM [56-59]. En nuestro laboratorio estamos realizando en la actualidad experimentos dirigidos a profundizar en los posibles mecanismos sinápticos de actuación del NO en el tálamo visual, combinando para ello el registro intracelular *in vivo* con la manipulación farmacológica de los sistemas colinérgico y nitrérgico.

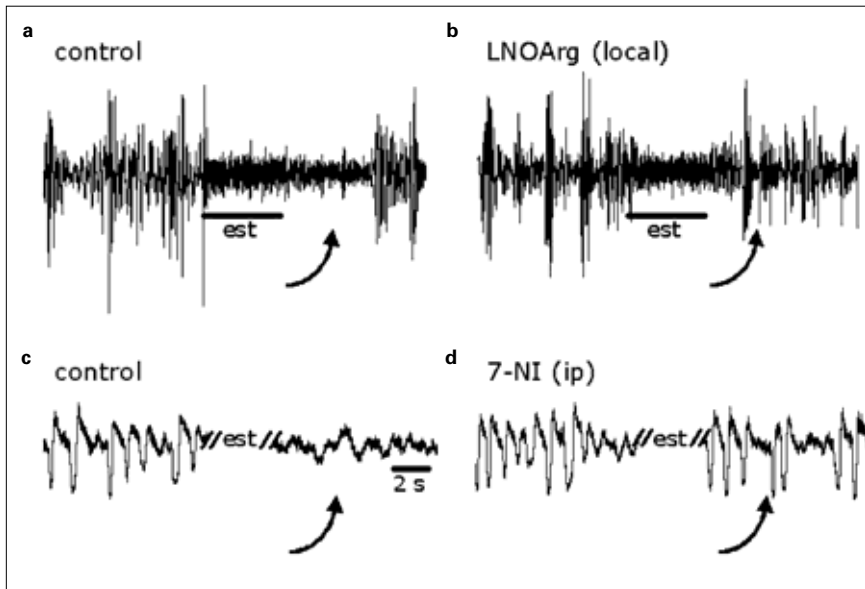


Figura 4. Registros de ECoG en S1 de gatos anestesiados con ketamina-xilacina en donde se muestra que el bloqueo de la síntesis de NO disminuye el efecto activador inducido sobre la corteza tras la estimulación del NB. Se muestran dos experimentos distintos, en uno se realizó un bloqueo local mediante microinyección con NG-nitro-Larginina (LNOArg), un inhibidor inespecífico de la NOS (trazos en a y b), y en otro un bloqueo sistémico con 7-nitroindazol (7-NI), un inhibidor específico de la NOS neuronal (trazos en c y d). En ambos casos, la estimulación del NB en condiciones control (indicado por 'est' en a y c) origina un cambio en el ECoG a una actividad de tipo tónico (flechas en a y c); sin embargo, este cambio no se produce al bloquear la síntesis de NO tanto con LNOArg (b) como con 7-NI (d). Las barras en a y b indican el tiempo de estimulación: 4 s. En los trazos de c y d para mayor claridad se ha eliminado la parte central durante la estimulación. Barra en c: 2 s.

UNA DUCHA DE NO PARA EL DESPERTAR CORTICAL

Más de un tercio de las neuronas corticales responden a la manipulación local de los niveles de NO con respuestas tanto excitatorias como inhibitorias a la estimulación visual [51]. Aparte de este efecto local y de respuesta a estímulos específicos, también se ha observado que en la corteza el NO modifica los patrones del sueño [57-59], con una tendencia a reducir los períodos de ondas lentas y a aumentar la actividad tónica [4]. En la corteza existen varios grupos de neuronas que tienen la capacidad de liberar NO [54,60], pero todavía se desconoce si tienen alguna implicación en los mecanismos de activación global o si participan en otros procesos más específicos.

Las neuronas que sí están íntimamente implicadas en la transición a la vigilia son las que forman parte de la otra gran ruta de activación cortical que asciende a través del complejo de núcleos del prosencéfalo basal. En esta región existe un gran número de células cuyos axones alcanzan la corteza y que participa en la potenciación de la activación cortical durante el despertar, la vigilia y el sueño REM, aunque también se han descrito neuronas que están activas durante el sueño NREM [29,61,62]. Las neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal (que en el gato se encuentran principalmente en la banda diagonal de Broca, sustancia innominada y el NB) contienen la enzima NOS [42], por lo que en sus terminales puede existir una cooperación ACh-NO similar a la que existe en las neuronas del tronco encefálico que alcanzan el tálamo. Trabajos recientes indican que la activación que producen estas fibras colinérgicas sobre la corteza se debe no sólo a los efectos directos sobre las neuronas, sino también a que establecen contactos con microarteriolas y capilares e inducen un aumento local del flujo sanguíneo que depende de mecanismos tanto colinérgicos como nitrérgicos [63-65]; además, se ha demostrado en

la rata que una parte de las neuronas corticales que poseen NOS también recibe conexiones de estos axones [64].

Nuestro grupo investigador ha centrado una serie de experimentos [5] en el estudio del papel del NO supuestamente liberado por las fibras colinérgicas que, procedentes del prosencéfalo basal, inervan la mayoría de las regiones corticales, y en su efecto sobre el ciclo sueño-vigilia. Partimos de la hipótesis de que el NO es liberado por estas fibras en la transición del sueño de ondas lentas al despertar, evocando una despolarización generalizada en la corteza cerebral. Para inducir este cambio realizamos microestimulación eléctrica en el NB, región en la que se encuentra gran número de neuronas colinérgicas implicadas en la excitación cortical, también denominadas neuronas Ch4 [66]. En los registros electrocorticográficos de control (Figs. 1b, 4a y 4c) se aprecia la modificación de la actividad cortical inducida de esta manera: inmediatamente tras cesar el estímulo (flechas en las figuras 4a y 4c), la actividad es de baja amplitud y alta frecuencia, como indican los análisis realizados (datos no mostrados). La inhibición de la liberación de NO en la corteza, tanto de manera local (Fig. 4b) como sistémica

(Fig. 4d), disminuye claramente la eficacia de la estimulación para inducir el cambio global de actividad observado bajo condiciones control. Estos resultados sugieren que el NO es un neuromodulador importante en el sistema prosencéfalo basal-corteza y que, al igual que en el tálamo, puede ser liberado de manera masiva ante las órdenes procedentes de los sistemas activadores del tronco y diencefalo.

CONCLUSIONES

El ciclo sueño-vigilia está controlado por las interacciones recíprocas entre núcleos hipotalámicos y mesopontinos, los cuales a su vez regulan el nivel de actividad en el tálamo, prosencéfalo basal y, finalmente, la corteza cerebral. El NO está presente en todas estas regiones y su actividad se encuentra asociada a la de la ACh, bien porque se liberan de manera conjunta para actuar sobre las mismas dianas –como ocurre en el tálamo y, presuntamente, en la corteza–, o bien porque el NO modifica la liberación de ACh. La mayoría de resultados experimentales indican que el NO produce una activación de las neuronas sobre las que actúa, por lo que su papel dentro de los complejos mecanismos de control circadiano sería el de facilitar la función de los sistemas activadores ascendentes, principalmente en los momentos en los que es preciso una modificación rápida y global de la actividad, como es el caso de la transición del sueño a la vigilia. El hecho de que esta sustancia se libere en estado gaseoso le confiere propiedades de velocidad de difusión y radio de acción que resultan idóneas para la función neuromoduladora propuesta en este trabajo. Los trabajos futuros habrán de dilucidar la importancia que este neuromodulador pueda tener en las patologías asociadas a los ciclos sueño-vigilia y a la transición entre ambos [58,67].

BIBLIOGRAFÍA

1. Hobson JA, Pace-Schott EF. The cognitive neuroscience of sleep: neuronal systems, consciousness and learning. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 679-93.
2. Pace-Schott EF, Hobson JA. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 591-605.
3. Taheri S, Zeitzer JM, Mignot E. The role of hypocretins (orexins) in sleep regulation and narcolepsy. *Annu Rev Neurosci* 2002; 25: 283-313.
4. Cudeiro J, Rivadulla C, Grieve KL. A possible role for nitric oxide at the sleep/wake interface. *Sleep* 2000; 23: 829-35.
5. Marino J, Cudeiro J. Nitric oxide-mediated cortical activation: a diffuse wake-up system. *J Neurosci* 2003; 23: 4299-307.
6. Leonard TO, Lydic R. Pontine nitric oxide modulates acetylcholine release, rapid eye movement sleep generation, and respiratory rate. *J Neurosci* 1997; 17: 774-85.
7. Garthwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 683-706.
8. Prast H, Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Prog Neurobiol* 2001; 64: 51-68.
9. Cudeiro J, Rivadulla C. Sight and insight—on the physiological role of nitric oxide in the visual system. *Trends Neurosci* 1999; 22: 109-16.
10. Maquet P. The role of sleep in learning and memory. *Science* 2001; 294: 1048-52.
11. Siegel JM. The REM sleep-memory consolidation hypothesis. *Science* 2001; 294: 1058-63.
12. Siegel JM. Clues to the functions of mammalian sleep. *Nature* 2005; 437: 1264-71.
13. Stickgold R. Sleep-dependent memory consolidation. *Nature* 2005; 437: 1272-8.
14. Stickgold R, Walker MP. Memory consolidation and reconsolidation: what is the role of sleep?. *Trends Neurosci* 2005; 28: 408-15.
15. Allison T, Cicchetti DV. Sleep in mammals: ecological and constitutional correlates. *Science* 1976; 194: 732-4.
16. Lima SL, Rattenborg NC, Lesku JA, Amlaner CJ. Sleep under the risk of predation. *Anim Behav* 2005; 70: 723-36.
17. Gopalakrishnan A, Ji LL, Cirelli C. Sleep deprivation and cellular responses to oxidative stress. *Sleep* 2004; 27: 27-35.
18. Guzmán-Marín R, Suntsova N, Stewart DR, Gong H, Szymusiak R, McGinty D. Sleep deprivation reduces proliferation of cells in the dentate gyrus of the hippocampus in rats. *J Physiol* 2003; 549: 563-71.
19. Guzmán-Marín R, Suntsova N, Methippara M, Greifenstein R, Szymusiak R, McGinty D. Sleep deprivation suppresses neurogenesis in the adult hippocampus of rats. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 2111-6.
20. Frank MG, Heller HC. The ontogeny of mammalian sleep: a reappraisal of alternative hypotheses. *J Sleep Res* 2003; 12: 25-34.
21. Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* 1993; 262: 679-85.
22. Steriade M. Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation. *Neuroscience* 2000; 101: 243-76.
23. Reinoso-Suárez F, De Andrés I, Rodrigo-Angulo ML, Garzón M. Brain structures and mechanisms involved in the generation of REM sleep. *Sleep Med Rev* 2001; 5: 63-77.
24. Reppert SM, Weaver DR. Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annu Rev Physiol* 2001; 63: 647-76.
25. Gillette MU, Tischkau SA. Suprachiasmatic nucleus: the brain's circadian clock. *Recent Prog Horm Res* 1999; 54: 33-59.
26. Gallopin T, Fort P, Eggemann E, Cauli B, Luppi PH, Rossier J, Audinat E, Muhlethaler M, Serafin M. Identification of sleep-promoting neurons in vitro. *Nature* 2000; 404: 992-5.
27. Sherin JE, Shiromani PJ, McCarley RW, Saper CB. Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. *Science* 1996; 271: 216-9.
28. Zaborszky L, Duque A. Sleep-wake mechanisms and basal forebrain circuitry. *Front Biosci* 2003; 8: 1146-69.
29. Szymusiak R. Magnocellular nuclei of the basal forebrain: substrates of sleep and arousal regulation. *Sleep* 1995; 18: 478-500.
30. Boylan MK, Fisher RS, Hull CD, Buchwald NA, Levine MS. Axonal branching of basal forebrain projections to the neocortex: a double-labeling study in the cat. *Brain Res* 1986; 375: 176-81.
31. Adams CE, Cepeda C, Boylan MK, Fisher RS, Hull CD, Buchwald NA, Wainer BH, Levine MS. Basal forebrain neurons have axon collaterals that project to widely divergent cortical areas in the cat. *Brain Res* 1986; 397: 365-71.
32. Metherate R, Cox CL, Ashe JH. Cellular bases of neocortical activation: modulation of neural oscillations by the nucleus basalis and endogenous acetylcholine. *J Neurosci* 1992; 12: 4701-11.
33. Perry E, Walker M, Grace J, Perry R. Acetylcholine in mind: a neurotransmitter correlate of consciousness?. *Trends Neurosci* 1999; 22: 273-80.
34. Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW. AMPA-induced excitotoxic lesions of the basal forebrain: a significant role for the cortical cholinergic system in attentional function. *J Neurosci* 1994; 14: 2313-26.
35. Sarter M, Bruno JP. The neglected constituent of the basal forebrain corticopetal projection system: GABAergic projections. *Eur J Neurosci* 2002; 15: 1867-73.
36. Gritti I, Mariotti M, Mancia M. GABAergic and cholinergic basal forebrain and preoptic-anterior hypothalamic projections to the mediodorsal nucleus of the thalamus in the cat. *Neuroscience* 1998; 85: 149-78.
37. Asanuma C. Axonal arborizations of a magnocellular basal nucleus input and their relation to the neurons in the thalamic reticular nucleus of rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 4746-50.
38. Freund TF, Meskenaite V. Gamma-aminobutyric acid-containing basal forebrain neurons innervate inhibitory interneurons in the neocortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 738-42.
39. Gaykema RP, Zaborszky L. Direct catecholaminergic-cholinergic interactions in the basal forebrain. II. Substantia nigra-ventral tegmental area projections to cholinergic neurons. *J Comp Neurol* 1996; 374: 555-77.
40. Steriade M, Jones EG, McCormick DA. *Thalamus. Vol I: Organization and function.* Oxford: Elsevier; 1997.
41. Bickford ME, Gunluk AE, Guido W, Sherman SM. Evidence that cholinergic axons from the parabrachial region of the brainstem are the exclusive source of nitric oxide in the lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 1993; 334: 410-30.
42. Bickford ME, Gunluk AE, Van Horn SC, Sherman SM. GABAergic projection from the basal forebrain to the visual sector of the thalamic reticular nucleus in the cat. *J Comp Neurol* 1994; 348: 481-510.
43. Griffith OW, Stuehr DJ. Nitric oxide synthases: properties and catalytic mechanism. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 707-36.
44. Vázquez J, Lydic R, Baghdoyan HA. The nitric oxide synthase inhibitor NG-Nitro-L-arginine increases basal forebrain acetylcholine release during sleep and wakefulness. *J Neurosci* 2002; 22: 5597-605.
45. Prast H, Philippu A. Nitric oxide releases acetylcholine in the basal forebrain. *Eur J Pharmacol* 1992; 216: 139-40.
46. Weber ET, Gannon RL, Michel AM, Gillette MU, Rea MA. Nitric oxide synthase inhibitor blocks light-induced phase shifts of the circadian activity rhythm, but not c-fos expression in the suprachiasmatic nucleus of the Syrian hamster. *Brain Res* 1995; 692: 137-42.
47. Rivadulla C, Rodríguez R, Martínez-Conde S, Acuña C, Cudeiro J. The influence of nitric oxide on perigeniculate GABAergic cell activity in the anaesthetized cat. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 2459-66.
48. Cudeiro J, Grieve KL, Rivadulla C, Rodríguez R, Martínez-Conde S, Acuña C. The role of nitric oxide in the transformation of visual information within the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *Neuropharmacology* 1994; 33: 1413-8.
49. Cudeiro J, Rivadulla C, Rodríguez R, Martínez-Conde S, Acuña C, Alonso JM. Modulatory influence of putative inhibitors of nitric oxide synthesis on visual processing in the cat lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* 1994; 71: 146-9.
50. Cudeiro J, Rivadulla C, Rodríguez R, Martínez-Conde S, Martínez L, Grieve KL, Acuña C. Further observations on the role of nitric oxide in the feline lateral geniculate nucleus. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 144-52.
51. Cudeiro J, Rivadulla C, Rodríguez R, Grieve KL, Martínez-Conde S, Acuña C. Actions of compounds manipulating the nitric oxide system in the cat primary visual cortex. *J Physiol* 1997; 504: 467-78.
52. Erisir A, Van Horn SC, Sherman SM. Relative numbers of cortical and brainstem inputs to the lateral geniculate nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 1517-20.
53. Koch C. The action of the corticofugal pathway on sensory thalamic nuclei: a hypothesis. *Neuroscience* 1987; 23: 399-406.
54. Csillik B, Mihaly A, Knyihar-Csillik E. Cytochemical correlates of the sleep-wake interface: concerted expression of brain-derived nitric oxide synthase (bNOS) and the nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) in a columnoid organization of the primate prefrontal cortex. *Ann Anat* 2004; 186: 217-21.
55. Pape HC, Mager R. Nitric oxide controls oscillatory activity in thalamocortical neurons. *Neuron* 1992; 9: 441-8.
56. Colas D, Bezin L, Gharib A, Morales A, Cespeglio R, Sarda N. REM sleep control during aging in SAM mice: a role for inducible nitric oxide synthase. *Neurobiol Aging* 2005; 26: 1375-84.
57. Gautier-Sauvigne S, Colas D, Parmantier P, Clement P, Gharib A, Sarda N, Cespeglio R. Nitric oxide and sleep. *Sleep Med Rev* 2005; 9: 101-13.
58. Clement P, Sarda N, Cespeglio R, Gharib A. Changes occurring in cortical NO release and brain NO-synthases during a paradoxical sleep deprivation and subsequent recovery in the rat. *J Neurochem* 2004; 90: 848-56.
59. Burette S, Leger L, Cespeglio R. Nitric oxide and sleep in the rat: a puzzling relationship. *Neuroscience* 1999; 92: 627-39.

60. Vincent SR, Kimura H. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience* 1992; 46: 755-84.
61. Szymusiak R, Alam N, McGinty D. Discharge patterns of neurons in cholinergic regions of the basal forebrain during waking and sleep. *Behav Brain Res* 2000; 115: 171-82.
62. Szymusiak R, McGinty D. Sleep-waking discharge of basal forebrain projection neurons in cats. *Brain Res Bull* 1989; 22: 423-30.
63. Tong XK, Hamel E. Basal forebrain nitric oxide synthase (NOS)-containing neurons project to microvessels and NOS neurons in the rat neocortex: cellular basis for cortical blood flow regulation. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 2769-80.
64. Vaucher E, Linville D, Hamel E. Cholinergic basal forebrain projections to nitric oxide synthase-containing neurons in the rat cerebral cortex. *Neuroscience* 1997; 79: 827-36.
65. Hamel E. Cholinergic modulation of the cortical microvascular bed. *Prog Brain Res* 2004; 145: 171-8.
66. Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 1983; 10: 1185-201.
67. Lavie L, Hefetz A, Luboshitzky R, Lavie P. Plasma levels of nitric oxide and L-arginine in sleep apnea patients: effects of nCPAP treatment. *J Mol Neurosci* 2003; 21: 57-63.

**¿CÓMO SE DESPIERTA EL CEREBRO?
EL SOPLO DEL ÓXIDO NÍTRICO**

Resumen. Objetivo. Se realiza una síntesis del papel desarrollado por el neuromodulador óxido nítrico (NO) en el control del ciclo sueño-vigilia, con énfasis en los sistemas activadores ascendentes que inducen la transición a la vigilia. Desarrollo. Existen varias hipótesis sobre la función del sueño, entre ellas: consolidación de la memoria, factores ecológicos, reparación celular y desarrollo del sistema nervioso. El ciclo sueño-vigilia es un proceso activo que está modulado por regiones subcorticales (núcleos mesopontinos, diencéfalo y prosencéfalo basal) entre las que se establecen conexiones e interacciones recíprocas. El gas NO se libera en neuronas y terminales de los núcleos moduladores del ciclo sueño-vigilia. El papel del NO en este ciclo está asociado fundamentalmente a los procesos de activación: transición a y mantenimiento de la vigilia y del sueño con movimiento rápido de los ojos (sueño REM). En el tálamo, el NO es liberado por terminales colinérgicas procedentes de los núcleos mesopontinos e induce una facilitación de la respuesta neuronal. En el prosencéfalo basal existe NO en las neuronas colinérgicas que contactan con la corteza, por lo que esta ruta ascendente también puede participar en la activación de la corteza mediante la liberación de NO. Conclusiones. El NO está presente en las neuronas de las regiones encefálicas encargadas de modular la transición del sueño a la vigilia; por lo tanto, este neuromodulador gaseoso puede tener una función esencial en potenciar la activación de las neuronas corticales de manera rápida y global. [REV NEUROL 2006; 42: 535-41]

Palabras clave. Acetilcolina. Colinérgico. Despertar. Nitrérgico. Núcleos mesopontinos. Óxido nítrico. Prosencéfalo basal. Sueño. Tálamo. Vigilia.

**COMO SE DESPERTA O CÉREBRO?
O SOPRO DO ÓXIDO NÍTRICO**

Resumo. Objectivo. Realiza-se uma síntese do papel desenvolvido pelo neuromodulador óxido nítrico (NO) no controlo do ciclo sono-vigília, com ênfase nos sistemas activadores ascendentes que induzem a transição à vigília. Desenvolvimento. Existem várias hipóteses sobre a função do sono, entre elas: a consolidação da memória, os factores ecológicos, a reparação celular e o desenvolvimento do sistema nervoso. O ciclo sono-vigília é um processo activo que está modulado por regiões subcorticais (núcleos mesopontinos, diencéfalo e prosencéfalo basal) entre as quais se estabelecem conexões e interações recíprocas. O gás NO liberta-se em neurónios e terminais dos núcleos moduladores do ciclo sono-vigília. O papel do NO neste ciclo está associado fundamentalmente aos processos de activação: transição a e manutenção da vigília e do sono com movimento rápido dos olhos (sono REM). No tálamo, o NO é libertado por terminais colinérgicos procedentes dos núcleos mesopontinos e induz uma resposta neuronal facilitada. No prosencéfalo basal existe NO nos neurónios colinérgicos que contactam com o cortex, pelo que esta rota ascendente também pode participar na activação do córtex mediante a libertação de NO. Conclusões. O NO está presente nos neurónios das regiões encefálicas encarregues de modular a transição do sono à vigília; portanto, este neuromodulador gasoso pode ter uma função essencial ao potenciar a activação dos neurónios corticais de maneira rápida e global. [REV NEUROL 2006; 42: 535-41]

Palavras chave. Acetilcolina. Colinérgico. Despertar. Nitrérgico. Núcleos mesopontinos. Óxido nítrico. Prosencéfalo basal. Sono. Tálamo. Vigília.