

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

Doctorado en Biología Experimental

Tesis Doctoral

**INTERACCIÓN SEROTONINA-ACETILCOLINA:
EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA SOBRE LA INMOVILIDAD
EN LA PRUEBA DE NADO FORZADO Y EL PATRÓN DE SUEÑO EN UN
MODELO ANIMAL DE DEPRESIÓN**

Presenta: M. en Psicobiol. Gonzalo Vázquez Palacios

Tutor: Dr. Javier Velázquez Moctezuma

Asesora: Dra. Anabel Jiménez Anguiano

Asesor: Dr. Stefan Mihailescu

Asesor: Dr. Carlos Torner Aguilar

INDICE

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES

1 DEPRESIÓN ENDÓGENA

1.1 Neuroquímica de la depresión

2 ASPECTOS GENERALES DE FENOMENO SUEÑO-VIGILIA

2.1 Estados de vigilancia en el ciclo sueño-vigilia

2.2 Neurofisiología del ciclo sueño-vigilia

2.3 Neuroquímica del sueño

2.3.1 Serotonina (5-HT)

2.3.2 Noradrenalina (NA)

2.3.3 Acetilcolina (ACh)

2.3.4 Interacción acetilcolina-monoaminas

3 NICOTINA, DEPRESIÓN Y SUEÑO

3.1 Relación entre la depresión y el sueño

3.1.1 Características clínicas del sueño en pacientes con trastornos del estado de ánimo

3.1.2 Relevancia clínica del sueño en pacientes con depresión

3.1.3 Efecto de fármacos antidepresivos sobre el sueño de pacientes con depresión

3.1.3.1 Antidepresivos Tricíclicos (TCA)

3.1.3.2 Antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS)

3.1.3.3 Modulación del sueño MOR

3.1.3.4 Actividad sobre la continuidad del sueño

3.2 Relación entre la nicotina y la depresión

4 MODELOS ANIMALES DE DEPRESIÓN

4.1 La administración neonatal de clomipramina (CLI): Un modelo animal de depresión inducido farmacológicamente

5 INTERACCIONES NICOTINA-SEROTONINA EN EL CEREBRO Y EN LA CONDUCTA

5.1 Modulación nicotínica de la neurotransmisión serotoninérgica en el sistema nervioso central

5.2 Interacciones nicotina-serotonina en la modulación de la ansiedad

5.3 Interacción nicotínico-serotoninérgicas en efectos estimulantes y recompensantes

5.3.1 Estimulación locomotriz

5.3.2 Preferencia de lugar, autoadministración y autoestimulación

6 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

7 HIPÓTESIS

8 OBJETIVO GENERAL

9 OBJETIVOS PARTICULARES

10 METODOLOGÍA

11 RESULTADOS

11.1 Efectos de la nicotina, fluoxetina y la combinación de ambos sobre la prueba de nado forzado (PNF).

11.2 Efectos de la nicotina, fluoxetina y la combinación de ambos sobre el patrón de sueño-vigilia

12 DISCUSIÓN

13 CONCLUSIONES

REFERENCIAS

INTRODUCCIÓN

La depresión es un trastorno afectivo que varía desde: bajas transitorias del estado de ánimo que son características de la vida misma, hasta el síndrome clínico, de gravedad y duración importante con signos y síntomas asociados, marcadamente distintos a la normalidad que no permiten al individuo desarrollarse. La depresión mayor es reconocida por ser sintomatológica (Beckham, 1995), psicológica (Arieti y Bemporad, 1980; Beck, 1983) y biológicamente (Thase y Howland, 1995) heterogénea. 121 millones de personas sufren de depresión alrededor del mundo (WHO, 2003) y se ha estimado una prevalencia del 15% en mujeres y de 8% en varones (Kessler et al, 1994). La depresión mayor es una enfermedad común que afecta e incapacita a más de 17 millones de norteamericanos cada año (WHO, 2003). En México, según datos de la Secretaria de Salud existen 8 millones de personas que la padecen, mientras que solo una de cada 40 recibe tratamiento psiquiátrico. En nuestro país es la segunda causa de ausencia laboral y en el mundo es la principal causa de suicidio. Aproximadamente el 70% de todos los suicidios son atribuidos a la depresión sin tratamiento y se ha determinado que 15% de los pacientes deprimidos terminan en suicidio consumado. Asimismo, este desorden es el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y muerte después de un infarto al miocardio (Musselman et al, 1998). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado a la depresión mayor como la causa más importante de morbilidad en la mujer. Además, la OMS ha anunciado que el cuadro de mortalidad y de enfermedad sufrirá un cambio radical en las próximas 2 décadas. De un quinto lugar en la actualidad, la depresión saltará a ocupar el segundo lugar, después de la enfermedad cardíaca coronaria. Se prevé que para el año 2020 será la principal causa de discapacidad, hoy por hoy es la cuarta enfermedad discapacitante a nivel mundial (Üstün et al, 2004; OMS, Mental Health home). Como puede verse la depresión mayor es una enfermedad grave que presenta una alta prevalencia en el ámbito de la atención primaria, con un impacto importante sobre el desarrollo y la funcionalidad de las personas y en consecuencia en la sociedad, impacto superior al de enfermedades como la hipertensión y la diabetes, entre otras, constituyendo por ende, un problema muy serio de salud pública.

ANTECEDENTES

1 DEPRESION ENDÓGENA

Clínicamente, la depresión se distingue en dos tipos: la depresión reactiva que puede producirse por eventos de la vida externa que afectan el estado de ánimo del individuo (una pérdida reciente u otro hecho triste); y la depresión endógena, a la que nos referiremos en este trabajo, que se define como una depresión sin precipitante externo que persiste más allá de un período justificado y generada por cambios bioquímicos en el sistema nervioso central (American Psychiatric Association DSM-IV-TR, 2003; Mendels y Cochrane, 1968; Mendels 1970; Neill et al, 1990; Nofzinger et al, 1993; Salín-Pascual, 2000; Vogel et al, 1990; Wehr, 1990).

De acuerdo al Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales- Texto revisado (American Psychiatric Association DSM-IV-TR, 2003), los trastornos que tienen como característica la alteración en el estado de ánimo están divididos en trastornos depresivos (depresión unipolar) y trastornos bipolares. Mientras que los trastornos depresivos (trastorno depresivo mayor, trastorno distímico y trastorno depresivo no especificado) se distinguen de los trastornos bipolares por el hecho de no presentar una historia previa de episodio maníaco, mixto o hipomaniaco. Los trastornos bipolares (p. ej. trastorno bipolar tipo I, bipolar tipo II, ciclotímico y trastornos no especificados) implican la presencia de episodios maníacos acompañados normalmente de episodios depresivos mayores (American Psychiatric Association DSM-IV-TR, 2003). En relación con los modelos animales de depresión existe la dificultad práctica para discriminar entre un tipo de depresión y otro, por lo cual en este trabajo nos referiremos de manera general a la depresión mayor o endógena.

De acuerdo al DSM-IV-TR (American Psychiatric Association DSM-IV-TR, 2003), la característica esencial de un episodio depresivo es un período de al menos dos semanas durante el cual hay un estado de ánimo deprimido o una pérdida de placer o interés en casi todas las actividades (anhedonia). Un episodio de depresión dura habitualmente de 6 a 9 meses, pero en el 15 al 20 por ciento de los pacientes dura 2 años o más. Los episodios generalmente tienden a recurrir varias veces a lo largo de la vida. Para considerar que un sujeto padece depresión mayor debe experimentar al menos cuatro síntomas de una lista que incluye cambios de apetito o de peso, alteraciones del sueño y de la actividad psicomotora; falta de energía; sentimiento de culpa; dificultad para pensar,

concentrarse o tomar decisiones; pensamientos o ideaciones de muerte, planes o intentos suicidas. Los síntomas deben mantenerse la mayor parte del día, durante al menos dos semanas.

El sujeto deprimido frecuentemente se describe, al cursar un episodio depresivo, como triste, desesperanzado, desanimado o como estar en un pozo. Al principio la tristeza puede ser negada, pero más tarde el sujeto puede referir que esta a punto de llorar. Por otro lado, generalmente y en mayor o en menor medida, hay pérdida de interés y de capacidad para experimentar placer, refiriéndose al sentimiento de estar menos interesado en sus aficiones y de haber perdido el interés o haber dejado de disfrutar actividades que antes consideraba placenteras. En algunos sujetos, además, se manifiesta una reducción del deseo sexual. La alteración asociada más a menudo al sueño es el insomnio y con menos frecuencia los sujetos se quejan de exceso de sueño en forma de un sueño prolongado nocturno o de un aumento del sueño diurno. Entre los cambios psicomotores se incluyen agitación o enlentecimiento, que deben ser lo bastante graves como para ser observables por los demás y no representar una sensación subjetiva. Es habitual además que el sujeto presente falta de energía, refiriéndose a ello como una fatiga persistente sin haber hecho ejercicio.

Existen además algunos signos que si bien no se presentan sistemáticamente, representan un apoyo importante para el diagnóstico de la depresión como son el avance de fase en algunos ritmos circadianos (ánimo, sueño, temperatura y actividad neuroendocrina) (para revisión: Bunney y Bunney, 2000), el aumento en los niveles del cortisol plasmático e incapacidad de la dexametasona para suprimirlo (Gibbons y McHugh, 1962; Holsboer, 1983).

1.1 Neuroquímica de la depresión

Durante el siglo pasado, la psiquiatría planteo diversas hipótesis, a partir de tres las líneas de pensamiento, para explicar la causa de los trastornos afectivos, de las cuales solo ahondaremos en la última, por ser motivo de este trabajo:

Psicodinámica: Esta postula que los diversos conflictos intrapsíquicos son la causa de los trastornos afectivos.

Aprendizaje-conductual Asume que pensamiento y sentimientos son conductas aprendidas y que un reforzamiento negativo provocaría los trastornos afectivos.

Psicobiológica: Considera que los trastornos afectivos son causados por factores biológicos (alteraciones neuroquímicas), y que tratamientos de tipo somático pueden ayudar a aliviarlos. La hipofunción de más de una vía neuronal, como la noradrenérgica, colinérgica, dopaminérgica y la serotoninérgica, se han considerado como la principal causa de la depresión (Van de Kar, 1989), ya que varios de estos sistemas de neurotransmisión participan tanto en la expresión como en la regulación de varias de las conductas que acompañan a los trastornos afectivos (Sachar, 1981). Dentro de ésta existen a la vez varias hipótesis que se mencionan brevemente a continuación:

1.- Hipótesis catecolaminérgica.

En la década de los 60, Joseph Schildkraut, en la Universidad de Harvard, y William Bunney y John Davis en el National Institute of Mental Health (NIMH), establecieron que la depresión clínica estaba asociada con una deficiencia de catecolaminas, noradrenalina y serotonina, en ciertas regiones del cerebro, mientras que la manía se correlacionaba/asociaba con un exceso de catecolaminas (Bunney y Davis, 1965; Schildkraut, 1965). La hipótesis original de las catecolaminas se basaba en dos evidencias primarias: 1) se encontró que la reserpina, un antihipertensivo que depleciona las reservas de catecolaminas, inducía depresión en algunos pacientes (Goodwin y Bunney, 1971), y 2) se encontró que los medicamentos antidepresivos inhibidores de la monoaminoxidasa y tricíclicos, elevaban la actividad de las catecolaminas en el cerebro y además producen mejoría clínica (Akiskal, 1995). A partir de estas observaciones se pensó que la depresión es causada por una disminución de las catecolaminas. Durante los 35 años subsiguientes, se llevó a cabo ulterior investigación para definir el rol de las catecolaminas en la fisiopatología de los trastornos del humor (Ressler y Nemeroff, 1999). Estos estudios se basaban en medir los niveles de MHPG (3-metoxi-4-hidroxifenilglicol), el mayor metabolito de la NA, en orina, sangre y líquido cefalorraquídeo; alteraciones en los receptores adrenérgicos, y cambios en el locus coeruleus. Tomados en conjunto, estos estudios confirmaron alteraciones en el sistema NA en pacientes deprimidos. Sin embargo, la dirección de estas alteraciones fue materia de considerable debate, por lo que se hacía difícil sostener cualquier hipótesis clara, ya sea de incremento o decremento de NA en la depresión. Así, la depleción de catecolaminas no causa depresión en todos los pacientes pero sí claramente en aquellos que ya estaban predispuestos a ella (Goodwin y Bunney, 1971). Más aún, basándose en la hipótesis de la depleción de catecolaminas, se podría esperar que el MHPG estuviera reducido en

pacientes deprimidos, sin embargo algunos estudios revelan justo lo contrario (Potter et al, 1983; 1993). Por otro lado, la administración de L-dopa, precursor de dopamina y norepinefrina no mejora los estados depresivos (Potter et al, 1983; 1993). Aunque desde una perspectiva actual las hipótesis de depleción de monoaminas parecen una visión sobresimplificada de la fisiopatología de la depresión, tuvieron el mérito de estimular la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos antidepresivos.

2.- Hipótesis serotoninérgica

Las células nerviosas que contienen serotonina están localizadas primariamente en los núcleos del rafe del tronco encefálico. Como las neuronas noradrenérgicas, se proyectan ampliamente a varias regiones del cerebro. La serptonina es reconocida como un modulador de las funciones cognitivas, fisiológicas y conductuales, incluyendo aprendizaje-memoria, sueño, regulación de la temperatura, del apetito y de ánimo, e interviene en desordenes como la ansiedad, la agresión y la depresión. En este sentido, la teoría del rol prominente de los sistemas serotoninérgicos en la etiología de la depresión ocupó un lugar paralelo a la de la hipótesis de las catecolaminas. En la década de los 60, se formuló la “hipótesis permisiva” que propuso que la depleción de la serotonina causaba depresión “permitiendo” la caída en los niveles de NA (Coppen, 1967; Prange et al, 1974). Esta hipótesis fue subsiguientemente sustentada por dos hallazgos. Primero, la investigación animal indicó que es necesario un sistema serotoninérgico intacto para el óptimo funcionamiento de las neuronas noradrenérgicas (Prange et al, 1974). Segundo, los medicamentos que incrementan las concentraciones sinápticas de serotonina, tales como los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), probaron ser terapéuticamente efectivos. Esta supone una disminución en la actividad de la serotonina cerebral, sin embargo el uso de precursores de la serotonina no alivia los síntomas depresivos. En un estudio reciente (Delgado et al, 1999), la depleción de triptófano, un método para deplecionar de serotonina en el sistema nervioso central, no tuvo efecto en el humor de sujetos sanos que no tenían historia previa de depresión. Asimismo, sólo 50% de los sujetos que tenían historia previa de depresión, experimentaron una recaída de sus síntomas depresivos luego de la depleción de triptófano. Adicionalmente, los pacientes que ya estaban deprimidos durante la instalación de la depleción de triptófano no experimentaron empeoramiento de sus síntomas. Paradójicamente, la inhibición de la triptófano-hidroxilasa, enzima limitante en la biosíntesis de serotonina, y que en consecuencia reduce las concentraciones de serotonina, reduce clínicamente la depresión (Clerc et al, 1986). Además, la tianepina que incrementa la recaptura de serotonina,

efecto opuesto al de los inhibidores selectivos, es un antidepresivo efectivo clínicamente (Mennini et al, 1987). Finalmente, el EXP-561, potente inhibidor de la recaptura de monoaminas, es completamente carente de actividad antidepresiva en humanos (Gershon et al, 1968). Estos resultados no apoyan la idea de que la depresión es causada por una deficiencia de monoaminas, en particular, de serotonina, por lo que tal explicación no es suficiente para la ocurrencia de la depresión.

2.- Hipótesis del balance aminérgico-colinérgico

Esta hipótesis postula un desequilibrio en la neurotransmisión central con una actividad predominante de la acetilcolina en la depresión y de la norepinefrina en la manía (Janowsky et al, 1972). Así, todas las intervenciones que suprimen el sueño MOR y en consecuencia corrigieran el desequilibrio colinérgico, podrían esperarse que tuvieran efectos antidepresivos. Esta hipótesis se ha integrado con el modelo de interacción recíproca de regulación del sueño MOR al considerar la relación entre los trastornos del sueño MOR y la depresión (McCarley, 1982). Esta idea propone la conceptualización de sistemas de control comunes para el sueño REM y el estado de ánimo; es el balance relativo entre el sistema monoaminérgico, particularmente en forma de una disminución en la tasa de disparo de las neuronas del núcleo del rafé, y el sistema colinérgico, lo que determina los correlatos biológicos y subjetivos de alteraciones del estado de ánimo, pero en particular sobre la regulación del sueño MOR, jugando un papel permisivo en “desinhibir” los circuitos PPT/LDT y con ello los los circuitos sinápticos colinérgicos que orquestan al sueño MOR (Steriade y McCarley, 1990; Steriade et al, 1993). Una de las implicaciones más importantes de este modelo es que sugiere que hay varios tipos de depresión, lo que está de acuerdo con datos clínicos recientes. Algunos tipos pueden relacionarse con la deficiencia en la acción monoaminérgica, mientras que otros pueden reflejar un deterioro en el funcionamiento del sistema colinérgico y otros pueden resultar de una combinación de factores. Nuestros resultados confirman esta propuesta teórica, al mostrar que la activación del sistema serotoninérgico en las ratas intactas, inducida por la administración de fluoxetina, nicotina y su combinación, puede alterar el equilibrio relativo entre el sistema monoaminérgico y el colinérgico, lo que podría inhibir los circuitos colinérgicos PPT/LDT y con ello disminuir o suprimir el sueño MOR.

4.-Hipótesis de la dicotomía noradrenalina/serotonina

Parecería que la fisiopatología primaria de la depresión no consiste en una deficiencia de NE (Ressler y Nemeroff, 1999) ni de serotonina (Akiskal, 1995). Sin embargo, una disfunción conjunta de los circuitos de NA y serotonina podría mediar muchos de los grupos de síntomas de la depresión, tales como: – NA: déficit en memoria y atención, disminución de la concentración, socialización reducida y alteración de los estados de activación; y – serotonina: pobre control de impulsos, disminución del impulso sexual, disminución del apetito e irritabilidad. Las alteraciones en los sistemas de NA y serotonina “podrían representar una vía final común neuroquímica de una falla homeostática” (Akiskal, 1995), que podría ser iniciada por alteraciones neuroquímicas diferentes de las aminas biogénicas.

5.-Modelo integrado

Actualmente la depresión es entendida como una enfermedad sistémica, heterogénea y compleja, que afecta a diferentes sistemas, aunque sus principales manifestaciones se expresan en el plano psíquico. Involucra alteraciones en los sistemas de neurotransmisión cerebrales y en los sistemas neuroendocrinos e inmunológicos, los que pueden explicar la variedad de síntomas observables en la fase depresiva (Heim y Nemeroff, 2001). Considera que la participación conjunta de las siguientes condiciones determina los estados afectivos:

- 1.- Vulnerabilidad biológica
2. -Historia personal del paciente
- 3.- Desencadenantes psicosociales
- 4.-Condición fisiológica general
- 5.-Rasgos y organización de la personalidad

Hoy se cree que esta enfermedad se origina en la interacción compleja entre una predisposición genética y sucesos vitales, como trauma o abuso infantil, los que producen cambios significativos en la actividad del sistema nervioso central. El resultado es una hiperactividad del sistema de la hormona liberadora de corticotropina (CRF) que conduce a una hipercortisolemia mantenida y a una hiperactivación del sistema noradrenérgico. Tanto CRF como el sistema noradrenérgico son los mediadores de la respuesta al estrés. Ambos sistemas ejercen amplias influencias, tanto en el cerebro como en la periferia, a través del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y del sistema nervioso autónomo. Estas alteraciones neurobiológicas pueden persistir durante la vida adulta, llevando a un sistema

hipersensible al estrés, el que sobrerreacciona incluso ante situaciones de tensión leves, propias de la vida cotidiana. Esta hipersensibilidad al estrés predispone tanto a los trastornos ansiosos como a los depresivos, condiciones clínicas que exhiben una elevada comorbilidad. También explica la tendencia a la recurrencia de los trastornos del estado de ánimo, ya que los sucesivos episodios vuelven más vulnerable al sistema y por lo tanto más predispuestos a sufrir nuevas fases depresivas. En este modelo explicativo, muchas alteraciones como las observadas en los sistemas de neurotransmisión central, a las que en un momento se les atribuyó importancia causal, hoy son vistas como epifenómenos. Lo mismo ocurriría con las alteraciones inmunes y de otros sistemas hormonales (Heim y Nemeroff, 2001).

1.2 Farmacología

Las drogas de elección para el tratamiento de la depresión son los tri o tetracíclicos (TCA) e inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS). Los TCAs imipramina (Tofranil), amitriptilina (Elavil), desipramina (Norpramin) y nortriptilina (Pamelor) bloquean la recaptura de norepinefrina (NA) y/o serotonina (5-HT) en las respectivas sinapsis centrales y periféricas. Esto incrementa los niveles de aminas circulantes en el sistema nervioso central. Los ISRS son un grupo reciente de antidepresivos que comprenden: fluoxentina (Prozac), citalopram (Celexa), paroxetina (Paxil), fluvoxamina (Luvox) y sertralina (Zoloft). Los ISRS esencialmente bloquean con alta especificidad la recaptura de serotonina (Grimley y Jann, 1992), lo que es suficiente para producir sus efectos antidepresivos y menos efectos secundarios que los TCA en general.

2 ASPECTOS GENERALES DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA

La mayoría de las ocasiones en las que se busca una definición científica del sueño, se suele encontrar una descripción de las variaciones en la actividad eléctrica cerebral, el llamado electroencefalograma (EEG), que tiene lugar durante dicha transición y aquí no será la excepción, a pesar de ello debemos considerar además, los cambios de comportamiento que acompañan a estas variaciones características al quedarse dormido, también llamado sueño conductual, como son: quiescencia de comportamiento, adopción de una postura estereotípica propia de la especie, un umbral elevado de excitación y un rápido cambio de estado después de estimulación intensa. También tenemos que considerar al fenómeno sueño-vigilia como un ritmo circadiano.

2.1 Estados de vigilancia en el ciclo sueño-vigilia

Hasta el desarrollo de la electroencefalografía, el estudio del sueño completó las evaluaciones conductuales y con ello fue posible determinar que los estados de sueño y vigilia se acompañan de cambios dinámicos en la actividad eléctrica de la corteza cerebral. El sueño es un estado biológico consistente de sueño de ondas lentas (SOL) y de sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR). Cada estado comprende una constelación de patrones fisiológicos de actividad. Aserinsky y Kleitman en 1953 describieron la fase de movimientos oculares rápidos (MORs) o sueño MOR (SMOR). Esta fase también ha sido denominada sueño paradójico (SP), ya que en ella se produce una desincronización del electroencefalograma (EEG), semejante a la de la vigilia (Jouvet, 1969). En la actualidad para un registro de sueño-vigilia es suficiente considerar los siguientes parámetros: EEG o actividad cortical, electrooculograma (EOG) para registro de MORs y electromiograma (EMG) para registro de tono muscular. Otros parámetros que pueden registrarse son la frecuencia respiratoria y cardíaca, así como la actividad específica de regiones del cerebro, como las ondas ponto-genículo-occipitales (PGOs).

Mediante la polisomnografía se pueden registrar seis estadios diferentes del ciclo sueño-vigilia: vigilia propiamente dicha, sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) y cuatro estadios de sueño de ondas lentas (SOL) o sueño con reducción de los movimientos oculares rápidos (NMOR)(estadios 1, 2, 3, 4). La vigilia es la etapa en la cual estamos despiertos y activos. Generalmente, el tono muscular está elevado y hay presencia de MORs. Durante esta fase predominan las frecuencias rápidas mezcladas α y β y de bajo voltaje (8-25 Hz) en el registro del EEG. En el estadio 1 del se produce la transición de la vigilia al sueño y constituye un 5% del tiempo total de sueño en los adultos sanos. El estadio 2 que se caracteriza por ondas electroencefalográficas específicas (husos de sueño y complejos K) constituye cerca del 50% del sueño. Los estadios 3 y 4 (conocidos propiamente como el sueño de ondas lentas o sueño delta) son los períodos de sueño más profundo y compone el 10-20% del sueño. El sueño MOR, durante el cual tiene lugar la mayor parte de la actividad onírica, compone alrededor del 20-25% del sueño total. Los estadios de sueño presentan una organización temporal a lo largo de la noche. Los estadios 3 y 4 de sueño NMOR tienden a aparecer desde el primer tercio hasta la mitad de la noche y aumentan su duración en respuesta a la privación de sueño. El sueño MOR aparece de un modo cíclico a lo largo de la noche, alternándose con el sueño NMOR cada 80-100 min. Los períodos de sueño MOR aumentan su duración al amanecer (DSM-IV TR, American Psychiatric Association, 2003). La investigación básica del sueño

se ha realizado en el gato y la rata fundamentalmente. Las señales registradas son similares que en el humano, pero adicionalmente se registran ponto geniculo occipitales (PGOs), que pueden registrarse en el puente, el núcleo geniculado lateral talámico y la corteza occipital del gato. Este tipo de actividad antecede unos segundos a la aparición del sueño MOR, y pueden aparecer aisladas o como ráfagas de dos o más espigas, apareciendo en el gato, un total de $13,000 \pm 1,500$ PGOs en 24 h (Próspero & Drucker, 1996).

De acuerdo a los estudios realizados en ratas adultas, en un ciclo de 24 h, la cantidad total de sueño es cercana al 50%, que se distribuye en un 40% de SOL y un 10% de SMOR. De acuerdo al tiempo total de sueño, el SOL ocupa un 80% mientras que el 20% restante lo ocupa el sueño MOR. En la rata, el ciclo sueño-vigilia es polifásico, con la mayor cantidad de sueño durante la fase luminosa o de reposo y una mayor actividad durante la fase oscura o de actividad. La vigilia alerta en el EEG se caracteriza por una actividad de frecuencia variable de entre 11.5-30 Hz y un voltaje de 30-50 μV . La vigilia quieta muestra un ritmo rápido y de bajo voltaje, conductualmente el animal se encuentra despierto y desplegando una gran variedad de actividades (Clancy et al, 1979). El SOL se caracteriza por husos de sueño de 10-13 cps, asociados a actividad lenta (0.25-3.5 -Hz) de alto voltaje (ritmo delta) hasta 100 y 200 μV (Fig. A). En esta fase la rata, al igual que otros mamíferos, muestra ausencia de movimientos corporales, ojos cerrados y, en algunos casos, la adopción de alguna postura específica. El humano, por ejemplo, adopta una postura horizontal variable, en cambio la rata se mantiene siempre sobre su vientre y sus 4 patas flexionadas, y con la cabeza inclinada sobre el tórax. El EMG, durante el SOL, revela disminución del tono muscular. Además se reduce la frecuencia cardiaca, la presión arterial y la temperatura corporal. La respiración se vuelve más lenta y regular, posiblemente debido a la reducción del intercambio gaseoso en los tejidos en reposo y a la disminución de la excitabilidad de los centros nerviosos respiratorios para el CO_2 . El sueño MOR se caracteriza por la aparición del ritmo theta (4-11 Hz), uniforme y con un voltaje de 50-150 μV . Puede registrarse tanto en la corteza como en la formación hipocámpica. La duración de cada episodio de sueño MOR en la rata es muy variable, de 1 a 5 minutos o más. El inicio de un episodio de sueño MOR está marcado por la pérdida total de tono en los músculos antigravitatorios, principalmente los del cuello, además de la presencia de MORs y de la actividad rápida en el EEG. El final del episodio está delimitado por la recuperación súbita del tono muscular, ya sea para pasar a la vigilia o regresar al SOL. La atonía muscular coexiste con activaciones fásicas del resto de la

musculatura, que se manifiesta en forma de sacudidas repentinas y bruscas, movimientos de vibrisas, orejas y cola (Holstock y Franks, 1971).

INSERTAR FIGURA A.

Por otro lado, se ha propuesto que el sueño está regulado por tres procesos: el homeostático, el circádico y el ultradiano (Borbély y Achermann, 1992). Brevemente, el proceso homeostático (S) se incrementa en relación directa con el tiempo total de vigilia. Esto o ("presión de sueño") que determina la cantidad de sueño de ondas lentas que aparecerá en la primera parte del dormir, de tal manera que cuando un individuo se mantiene más tiempo despierto, más presión de sueño tiene y una vez que empieza a dormir esta presión de sueño disminuye y declina rápidamente. El proceso circádico (C) es cercano a las 25 h y se refiere a la influencia del reloj interno cerebral que interactúa con el ciclo sueño-vigilia a través de la promoción de ambos. El proceso C aumenta la presión de sueño a través del día y alcanza su pico máximo poco antes del inicio habitual del dormir disminuyendo a través de la noche y alcanza su mínimo antes de despertar. El proceso C es sincronizado por la información del medio (luz-oscuridad) en un rango de 24 h, pero no impide su aparición. Así, el proceso C sirve para consolidar la vigilia al final del día cuando el proceso S es alto y también para consolidar el sueño al final de la noche cuando el proceso S es bajo. Estos procesos son independientes en condiciones normales y como resultado de su interacción se sucede diariamente una cuota nocturna determinada de 7-9 horas de sueño y una de 15-17 horas de vigilia. Por último, el proceso ultradiano ocurre durante el sueño y regula la forma en que se alternan el SOL y el sueño MOR durante las 24 h. La aparición del SOL o del sueño MOR ocurre cuando la presión de sueño de los procesos homeostático, circadiano y ultradiano llegan al máximo (Borbély y Achermann, 1992; Ver revisión: Achermann, 2004).

2.2 Neurofisiología del ciclo sueño-vigilia

El ciclo sueño-vigilia es una manifestación básica de la actividad del SNC a la vez que es regulado por diversas estructuras cerebrales. Algunas de estas estructuras se han determinado con base en resultados obtenidos al realizar secciones en diferentes niveles del neuroeje. El método de seccionar para identificar la función de una determinada estructura, fue iniciado a principios del siglo XX. En los años 30's del siglo pasado, Bremer (1935), indujo un estado electroencefalográfico que muestra oscilaciones entre vigilia y sueño con una marcada tendencia a la sincronización del EEG y los signos

oculares del sueño al separar el bulbo raquídeo de la médula espinal ("encéfalo aislado"). Por otra parte, la transección a nivel del mesencéfalo ("cerebro aislado") del gato mostró una actividad sincrónica predominando las frecuencias de alto voltaje y miosis (Jouvet, 1988) donde pueden alcanzarse breves periodos de alertamiento por estimulación intensa. Con estos resultados, Bremer propuso que la vigilia se producía y mantenía por una entrada sensorial constante mientras que el sueño aparecía como una falta de estimulación al sistema nervioso (Bremer, 1935). Tales hallazgos lo llevaron a proponer la teoría "pasiva" del sueño. Más tarde, Moruzzi y Magoun (1949) mostraron que la estimulación de alta frecuencia en la formación reticular del tallo cerebral (formación reticular bulbar, pontina y mesencefálica) así como la estimulación del hipotálamo dorsal y del subtálamo provocaban desincronización del EEG cuando la actividad basal es de ondas lentas ("despertar electroencefalográfico"). Con estos resultados propusieron la existencia de un sistema reticular activador ascendente de la corteza cerebral. Otros experimentos demostraron que la lesión de la formación reticular del tronco cerebral induce un estado de sueño permanente pese a que las aferencias sensoriales funcionen con normalidad (Moruzzi, 1972). Lo que permitió concluir que el mecanismo que regula el sueño no es un fenómeno pasivo, sino que se induce activamente (McCarley, 1990; Steriade, 1992).

En las últimas décadas se ha ido demostrando la participación de diversas estructuras cerebrales en las manifestaciones fenomenológicas de los estados de sueño. Así, parece razonable concluir que la modulación del SL depende preferentemente de estructuras rostrales: prosencefálicas, mientras que la modulación del sueño MOR depende de estructuras romboencefálicas o del tronco cerebral (Próspero & Drucker, 1996). Por otro lado, se ha localizado un proceso hipnogénico dentro del cerebro basal anterior en las cercanías del núcleo del tracto solitario, en donde la estimulación eléctrica produce sincronización del EEG asociado a la conducta de sueño (Magni et al, 1961). Algunos núcleos del hipotálamo posterior, se les ha asociado con la generación y regulación de la vigilia y del sueño MOR (Sakai et al, 1990). El hipotálamo posterior envía fibras histaminérgicas difusas a la corteza y al tálamo. Estas conexiones son consideradas como parte del sistema activador de la vigilia dado que su lesión produce somnolencia continua (Nauta, 1946). Por otro lado, algunos núcleos del hipotálamo anterior poseen centros de influencia facilitatoria del SOL (Steriade, 1992). En ese sentido, se ha demostrado que las lesiones de la región anterior del hipotálamo producen insomnio (Nauta, 1946). Las áreas preóptica medial, banda diagonal de Broca (DBB),

preóptica lateral magnocelular (LPO), la sustancia innominada subpálida y el globo pálido constituyen una región compleja que contiene vías y elementos neuronales en donde se integran procesos hormonales, metabólicos y conductuales. Estas áreas participan sobre el mantenimiento y consolidación del SOL, al ser lesionadas producen disminución del sueño, pérdida del SOL profundo, disminución de la frecuencia de aparición del SOL y del sueño MOR, en tanto que se aumenta la duración de la vigilia (Szymusiak y McGinty, 1989). Particularmente, el área preóptica medial juega un papel importante en el control del sueño, así como en la regulación de otras funciones fisiológicas como la temperatura corporal (Alam y Mallick, 1991; Alam et al, 1995; Mallick y Alam, 1997; Steriade y McCarley, 1990). El área preóptica es inervada por gran cantidad de proyecciones histaminérgicas (Lin y Jouvet, 1994) y serotoninérgicas provenientes principalmente del núcleo del rafé dorsal (Houdouin et al, 1991). Además esta estructura recibe aferencias de los núcleos colinérgicos del puente (Kass, 1986). Se ha reportado que la lesión del área preóptica medial causa alteraciones en el sueño de ondas lentas y en el sueño MOR (Asala Alam et al, 1990). Además, se ha demostrado que la inyección del péptido muramil (García-Arraras y Pappenheimer, 1983), el carbacol (Talwar y Kumar, 1994), las prostanglandinas D₂ (Szymusiak y McGinty, 1990) y E₂ (Onoe et al, 1992) dentro del área preóptica medial del hipotálamo inducen tanto SOL como sueño MOR. La estimulación de los receptores colinérgicos en el área supraóptica medial afecta el sueño y la temperatura cortical (Imeri et al, 1995). Por experimentos utilizando antagonistas específicos para los receptores muscarínicos M₁, M₂ y M₃, como la pirenzepina, triptamina y P-f -HHSID inyectados dentro del área supraóptica medial, se sabe que sólo el subtipo M₂ puede ser funcionalmente importante en la mediación de los efectos colinérgicos en el sueño y la termorregulación (Imeri et al, 1995; Schliebs y Beas, 1990; Velazquez-Moctezuma et al, 1991). Se ha observado además, que las células del área preóptica, de la banda diagonal de Broca, de la sustancia innominada y del globo pálido, aumentan su frecuencia de disparo durante el SOL y no durante la vigilia o el sueño MOR, lo que permite suponer que inducen sincronización del EEG (McGinty y Szymusiak, 1988; Steriade, 1987). Por otra parte, el núcleo accumbens, una región cercana a las mencionadas arriba, presenta células que descargan preferentemente durante la vigilia y el sueño MOR (Próspero y Drucker, 1996).

Por otro lado, se ha demostrado que el hipocampo presenta ritmo theta durante la vigilia y el sueño MOR (Faradji et al, 1979), mostrando cuatro tipos de actividad celular (Vanderwolf, 1988). El primero es el presentado por las neuronas piramidales y

granulares de la región hipocámpica superior y de la circunvolución dentada. Estas células disminuyen su descarga durante la vigilia y el sueño MOR y la incrementan en el SOL (Steriade y Hobson, 1976). El segundo tipo de actividad está relacionado con la generación del ritmo theta producido por las células theta. Estas neuronas muestran una actividad rítmica acompañada de ritmo theta, cuando el sujeto está en vigilia activa o en sueño MOR. Sin embargo su frecuencia de disparo en la vigilia pasiva y en el SOL muestra poca modificación. Un tercer tipo de actividad es la mostrada por las neuronas capaces de responder a la estimulación eléctrica de las fibras aferentes al hipocampo, esto es, las fibras comisurales hipocámpicas o la vía perforada. Estas células disminuyen su respuesta a la estimulación eléctrica durante la vigilia activa y el sueño MOR. Como estas neuronas responden con un patrón de actividad similar al de las células de Renshaw de la médula espinal se ha sugerido que son interneuronas (Próspero et al, 1993). El cuarto tipo de actividad es el producido por las llamadas células de lugar. Estas neuronas aumentan su frecuencia de disparo durante el sueño MOR, cuando el sujeto está aprendiendo a localizar un estímulo visual determinado en el espacio (Pavlides y Winston, 1989).

La corteza cerebral fue estudiada inicialmente por Evarts, quien demostró que la actividad de las neuronas piramidales corticales disminuye durante el SOL y durante el sueño MOR se recupera a un nivel similar al de la vigilia, pero con un patrón de actividad más rítmico (citado por Próspero & Drucker, 1996). Por otra parte las neuronas de asociación del gato disminuyen su frecuencia de disparo y presentan un patrón de actividad-supresión durante el SOL, mientras que durante el sueño MOR se incrementa su actividad hasta un nivel mayor que durante la vigilia (Hobson et al, 1986; Steriade, 1978, 1987; Steriade y McCarley, 1990). También se ha registrado la actividad de interneuronas y se ha demostrado aumentan su frecuencia de disparo de manera progresiva hasta alcanzar una actividad máxima durante el sueño MOR (Steriade, 1978; Steriade y McCarley, 1990). Asimismo, se ha relacionado la frecuencia máxima de disparo con la desincronización cortical (Szymusiak y McGinty, 1989).

El tálamo ha sido relacionado con la generación de actividad de ondas lentas. Diversos trabajos demostraron que la estimulación de los núcleos intralaminares o de la masa intermedia induce SOL (Próspero y Drucker, 1996; Sarper y Loewy, 1980). En los últimos años se ha descrito detalladamente el mecanismo por el cual el tálamo genera los husos de sueño que aparecen durante el SOL (Jouvet, 1988; McCormick y Bal, 1997; Steriade, 1993). El modelo propone la conjunción de tres grupos neuronales: células

piramidales corticales, células GABAérgicas del núcleo talámico reticular y células intralaminares (Curró-Dossi et al, 1991). Los dos últimos grupos presentan oscilaciones en su actividad acopladas como imagen especular. Así, cuando las células GABAérgicas del núcleo talámico reticular descargan, las células intralaminares están silentes, mientras que cuando las células intralaminares descargan las células del núcleo talámico reticular permanecen silentes (Steriade et al, 1993). Esta actividad es regulada por las neuronas colinérgicas del área mesopontina peribraquial que al hiperpolarizar a las neuronas del núcleo talámico reticular, inhiben la aparición de los husos de sueño. Así, las neuronas del área mesopontina peribraquial reducen su actividad espontánea unos cuantos milisegundos antes y durante los husos de sueño (Steriade, 1994).

El tronco cerebral contiene una gran variedad de núcleos que modulan diversas funciones relacionadas con el sueño MOR (Jouvet, 1972; Jones y Yang, 1991; McCarley, 1990; Semba y Fibinger, 1992; Shiromani et al, 1992). Desde que Moruzzi y Magoun (1949), mostraron que la estimulación de alta frecuencia en la formación reticular del tallo cerebral induce desincronización del EEG, se ha acumulado una gran cantidad de información que la involucra en la generación de diferentes fenómenos del ciclo sueño-vigilia. La formación reticular proyecta fibras noradrenérgicas y serotoninérgicas hacia el hipotálamo, subtálamo y cerebro basal, y directamente a la corteza y al hipocampo (Jones, 1985). De hecho, las células de la formación reticular mesencefálica (FRM) aumentan su frecuencia de disparo, tanto en la vigilia como en el sueño MOR, unos milisegundos antes y durante los periodos de desincronización del EEG (Steriade, 1990). En este sentido, la administración de ácido kaínico en la FRM induce una desincronización electroencefalográfica rápida y duradera que no desaparece aún cuando destruye a las neuronas (Próspero y Drucker, 1996).

A la formación reticular pontina (FRP) se le han atribuido, entre otras, las siguientes funciones: 1) disparar el sueño MOR, 2) controlar el despertar y la atención, 3) establecer el nivel del tono muscular, 4) coordinar los movimientos del cuello, cabeza y músculos extraoculares, e) activar el proceso de marcha, etc. La actividad unitaria de células de la FRP se incrementa durante la vigilia activa y el sueño MOR. Asimismo, la estimulación eléctrica y colinérgica de la FRP produce desincronización del EEG y generación de ritmo theta en el hipocampo (Vertes, 1986). No obstante, la lesión de esta zona con ácido kaínico no inhibe la desincronización, mientras que la lesión electrolítica sí lo hace, posiblemente por efecto de lesionar a las fibras de paso. Por otro lado, los grupos neuronales del complejo del rafé y del locus coeruleus inervan regiones corticales. En

la actualidad se ha determinado que la actividad unitaria de las células del locus coeruleus y del rafé dorsal (dorsalis y centralis) presenta una frecuencia de disparo máxima durante la vigilia, que disminuye durante el SOL, desapareciendo durante el sueño MOR y se inhibe prácticamente durante el sueño MOR (McGinty y Harper, 1976). Aún así, la estimulación nociceptiva incrementa la frecuencia de disparo de las neuronas del locus coeruleus, mientras que la administración iontoforética directa de clonidina inhibe la actividad de estas neuronas al tiempo que sincroniza el EEG. Se ha reportado que el núcleo bulbar magnocelular contiene células que aumentan su frecuencia de disparo cerca de 20 milisegundos antes de los periodos de desincronización cortical y durante los mismos (Sakai, 1985). Diversos estudios han implicado al locus coeruleus en la generación de la atonía muscular (Bier y McCarley, 1994; Jones, 1991; Morrison, 1983; Sakai, 1979; Sakai et al, 1980). Se ha propuesto que la parte ventral del locus coeruleus es la estructura que induce la atonía y que este efecto es mediado por la ACh, la cual puede inducir atonía sin inducir sueño MOR (Gottesmann 1997; Shouse y Siegel, 1992; Siegel, 1994). Las fibras axonales de estas células viajan en el tracto tegmento-reticular lateral y hacen sinapsis con las neuronas del núcleo magnocelular y del núcleo paramediano ambos situados en el bulbo raquídeo (Siegel, 1994). Si se estimulan eléctricamente estos núcleos se induce atonía. Recientemente se ha demostrado que la inyección de ácido glutámico en el núcleo magnocelular induce atonía mientras que los fármacos colinérgicos no inducen tal efecto (Siegel, 1994). Por otra parte, el núcleo paramediano no responde a la inyección de glutamato mientras que los fármacos colinérgicos muestran inducen una potente atonía (Gottesmann, 1997). Las neuronas que integran estos dos núcleos proyectan sus fibras axonales por el tracto retículo-espinal ventrolateral hacia los diferentes niveles de la médula espinal donde sinaptan con interneuronas inhibitorias, posiblemente glicinérgicas, y que hiperpolarizan a las motoneuronas (Morales y Chase, 1978), así como a una inhibición de la actividad tálamo-cortical (Llinas y Pare, 1991), originando, en consecuencia, la atonía muscular (Chase y Morales, 1994). De hecho, en el gato privado de movimiento libre, las motoneuronas están hiperpolarizadas durante el sueño MOR (Chase y Morales, 1994).

Por otra parte, también se ha sugerido que las estructuras generadoras de las espigas ponto-genículo-occipitales (PGOs), se hallan en el área mesopontina de la región peribraquial (para revisión ver: Gottesmann, 1997). Esta región se originan en el área X del tegmento pontino dorsal (núcleo colinérgico mesopontino) (Sakai, 1985), que parece contener al complejo de los núcleos colinérgicos tegmental pedúnculo-pontino (PPT) y

tegmental laterodorsal (LDT debido a que lesiones en dichas neuronas anulan su aparición (McCarley et al, 1978; Jones, 1991). Las neuronas de los núcleos PPT Y LDT descargan 15-25 milisegundos antes de que se registre la PGO en el cuerpo geniculado lateral. Estas estructuras envían proyecciones al cuerpo geniculado lateral, donde activan a las células de este núcleo, a través de receptores nicotínicos. A su vez, dicho núcleo talámico envía proyecciones a la corteza occipital (Sakai, 1980; Jones, 1991). Por lo anterior se supone que las PGOs son colinérgicas. Sin embargo, su modulación parece depender del sistema serotoninérgico, ya que la reducción farmacológica de la serotonina induce la aparición de PGOs aún durante la vigilia (Steriade y McCarley, 1990).

Otro de los cambios asociados al sueño, pero específicamente al SMOR son los movimientos oculares rápidos (MORs) (para revisión ver: Gottesmann, 1997), que son generados con la participación del tronco cerebral (Sakai, 1985) y especialmente de la FRP (Steriade y McCarley, 1990). Así, la estimulación eléctrica de esta área genera MORs, mientras que la lesión unilateral de esta zona suprime los MORs horizontales hacia el lado de la lesión, mientras que la lesión caudal de la FRP deteriora los MORs en todas las direcciones. Dicha región está localizada dorsalmente al núcleo reticular del tegmento pontino. La lesión del núcleo intersticial rostral del fascículo longitudinal medial produce un déficit de MORs verticales. La administración de muscimol, fármaco GABAérgico, en este núcleo, inhibe los MORs temporalmente, lo que sugiere la participación, al menos parcialmente de este neurotransmisor en los MORs (Para revisión: Próspero y Drucker, 1996).

2.3 NEUROQUIMICA DEL SUEÑO

Numerosos han sido los neurotransmisores y neuropeptidos involucrados en la regulación sueño-vigilia. De ellos, la acetilcolina (ACh), la serotonina (5-HT), la noradrenalina (NA) y la dopamina (DA) son los que presentan una acción más conocida, aunque esta actividad no sea independiente una de otra, sino resultado de la interacción entre sí a través de interconexiones neuronales.

2.3.1 Serotonina (5-HT)

Existen diversas evidencias experimentales que apoyan la participación de la serotonina sobre el sueño (ver revisiones recientes: Jouvet, 1999 y Ursin, 2002) y que pueden resumirse como sigue: La administración de serotonina en el área postrema de gatos (Koella et al, 1968), o sus precursores, como L-triptofano (TP) o el 5-hidroxitriptofano (5-HTP)(Jouvet, 1969), inducen SOL y suprimen el sueño MOR. Por otro lado, el bloqueo farmacológico de la serotonina con p-clorofenilalanina (PCPA), inhibidor de la enzima limitante en la síntesis de serotonina, la triptofano hidroxilasa, reduce el SOL y el sueño MOR durante 48-52 h, generando un insomnio casi completo, acompañado de PGOs (Delorme et al, 1965). Este efecto es reducido por la administración de serotonina o 5-HTP (Mouret et al, 1967; Petitjean et al, 1985).

Por otra parte, las lesiones electrolíticas del núcleo del rafe dorsal (NRD), producen una reducción de los niveles de serotonina cerebrales paralela a una reducción del SOL y del sueño MOR dependiente del tamaño de la lesión (Jouvet y Renault, 1966). Asimismo, lesiones rostrales producen la aparición de sueño MOR después de la vigilia, de manera similar a la narcolepsia (Jouvet, 1969). Por otra parte, existen fuertes evidencias de que la serotonina participa en la regulación de la vigilia ya que las neuronas de los núcleos del rafe disminuyen su actividad conforme se instala el sueño (McGinty et al, 1973; Trulson y Jacobs, 1979). Cuando se instala el sueño lento la actividad de las neuronas decrece a un 50 % en relación a la vigilia, y desciende aún más durante el sueño MOR (McGinty y Szymusiak, 1988). Esto se correlaciona con que la liberación de serotonina por los núcleos del rafe se encuentra aumentada durante la vigilia y disminuida durante el sueño (McGinty y Harper, 1976).

Mediciones del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), principal metabolito de la serotonina, en el hipotálamo mediante la técnica de voltametría in vivo, han reportado un incremento de éste metabolito con la vigilia y una disminución con el sueño (Benington y Heller, 1995; Imeri et al, 1994). Resultados similares se han encontrado con la estimulación eléctrica del núcleo del rafe dorsal y el hipotálamo (Houdouin et al, 1991). Se ha propuesto que la serotonina cumple un papel desactivador del encéfalo, disminuyendo la reactividad a los estímulos externos y permitiendo que el encéfalo sea modulado por los sistemas inductores de sueño (Ursin et al, 1989). Diversos trabajos apoyan esta idea, por ejemplo, se ha encontrado que la serotonina disminuye la velocidad de conducción de la información de los sistemas sensoriales y regula la expresión de los sistemas motores (Jacobs y Fornal, 1993). Esto es, cuando el gato centra su atención a un estímulo externo la actividad de las neuronas serotoninérgicas aumenta, mientras que cuando no hay

actividad motora su actividad disminuye. Todo ello ha sugerido que la serotonina esta mayormente relacionada con estos eventos durante la vigilia que con el sueño mismo (Próspero y Drucker, 1996). Estudios farmacológicos también apoyan esta idea, ya que la administración de fármacos inhibidores de la recaptura de serotonina, como la zimeldina y el alaproclato, incrementan la sincronización del EEG durante la vigilia, mientras que este efecto se potencia si se combinan con 5-HTP (Sommerfelt y Ursin, 1987). Esta hipótesis se sustenta en estudios realizados en gatos insomnes pretratados con PCPA. Estos estudios muestran que sin serotonina en el cerebro no hay sueño (Ursin, 2002). Sin embargo con la administración crónica de PCPA el sueño eventualmente reaparece a pesar de los bajos niveles de serotonina cerebral (Dement et al, 1973). En estos animales la administración regional de serotonina en el hipotálamo y en el NSQ incrementa la liberación del péptido intestinal vasoactivo (VIP), con propiedades hipnogénicas (Shimatsu et al, 1982; 1983; Kiss et al, 1984). El péptido parecido a la corticotropina (CLIP) ha sido otro candidato propuesto, ya que tiene un efecto inductor de sueño junto con un incremento en los niveles de 5-HIAA en el núcleo del rafé dorsal (Cespuglio et al, 1992; Houdouin et al, 1991). Mediante estudios de voltametría, se ha propuesto que existen dos modalidades diferentes que regulan la liberación de serotonina del núcleo del rafé dorsal durante el ciclo sueño-vigilia (para revisión: Cespuglio et al, 1992). La primera sucede en la vigilia, a través de la liberación axonal de serotonina, medida en el hipotálamo, y que se correlaciona con los registros unitarios del núcleo del rafé dorsal, esto ha sido interpretado como la señal para la acumulación del factor hipotálmico de sueño. La segunda modalidad es dada por la liberación dendrítica local de serotonina en el núcleo del rafé dorsal, donde aparece un decremento en la concentración extracelular de serotonina durante la vigilia, mientras se incrementa en el SOL y en el sueño MOR. Esta liberación ha sido interpretada como la responsable de un proceso autoinhibitorio que reduce la actividad de las neuronas serotoninérgicas durante el sueño (Cespuglio et al, 1992). Así los trabajos que relacionan a la serotonina con el sueño, indican que esta amina desempeña un papel importante en la regulación de los diferentes estados de vigilancia a través de la síntesis, liberación y almacenamiento de algún o algunos factores inductores de sueño (Benington y Heller, 1995; Cespuglio et al, 1992). Los fármacos antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (de los cuales hablaremos con más detenimiento en otro apartado) conllevan la mayoría de ellos una disminución o supresión de SMOR, y sorprendentemente un afecto alertante. La posible explicación estaría en la inhibición presináptica aguda de la liberación de la serotonina (Nicholson et al, 1986).

Fármacos como la fenfluramina, que actúan estimulando la liberación presináptica al mismo tiempo que inhiben la recaptura de la serotonina, conllevarían, pues, un efecto sedante en humanos. Por último, cabe mencionar el efecto regulador de la serotonina en las características del SOL: la ritanserina, antagonista específico de receptores 5-HT₂, en humanos provoca un aumento de sueño delta. Recientemente se ha sugerido que la serotonina es un neuromodulador de los estados de vigilia y que puede ser responsable durante la vigilia de la síntesis, liberación y almacenamiento de algún factor o factores inductores de sueño hipotalámico (Jouvet, 1999; Ursin, 2002). Por otra parte, todas las diferencias en la modulación del sueño que presenta el sistema serotoninérgico en humanos y en animales, parecen debidas a la diferente naturaleza de los distintos receptores según la especie (Jouvet, 1999).

2.3.2 Noradrenalina (NA)

Existen evidencias importantes que sugieren que el sistema noradrenérgico del tallo cerebral juega un papel importante en los mecanismos preferentemente de la vigilia y, en interacción con la ACh, del sueño MOR. Así, la estimulación eléctrica del Locus coeruleus despierta a un animal dormido, mientras que su inactivación por congelamiento aumenta el SOL (Cespeglio et al, 1982). Los estímulos que producen un estado de alerta o estrés en el sujeto aumentan la frecuencia de disparo de las neuronas del locus coeruleus (Próspero y Drucker, 1996). Mientras que, por otro lado, cuando un sujeto pasa de SL a SMOR, la frecuencia de descarga de estas neuronas va disminuyendo progresivamente hasta desaparecer durante el sueño MOR (McGinty y Harper, 1976; McGinty y Szymusiak, 1988). Estudios farmacológicos han mostrado que inhibidores de la síntesis de catecolaminas como la reserpina, producen un estado de relajación y aparición de PGOs, este efecto, por otra parte, es revertido por la administración de L-DOPA, compuesto precursor de las catecolaminas (Jouvet, 1969). Además de que este último fármaco incrementa por sí mismo la vigilia. A su vez, la liberación tanto de dopamina, como de NA, inducida por las anfetaminas, aumentan los periodos de vigilia (Próspero y Drucker, 1996). La administración de un bloqueador de la síntesis de NA, el disulfiram, induce un decremento en la cantidad de sueño MOR (Dusan-Peyrethon y Froment, 1968). Por otra parte, bloqueadores de la síntesis de NA no disminuyen el sueño MOR. Asimismo inhibidores de la monoamino-oxidasa (MAO), enzima que degrada a la NA, aumentan la vigilia (Próspero y Drucker, 1996). También se ha determinado que la α -metil-paratiroxina (fármaco inhibidor de la tirosin hidroxilasa)(Stern y Morgane, 1973),

propranolol (antagonista β -adrenérgico), clonidina (antagonista α_2 adrenérgico que inhibe la actividad del locus coeruleus)(Putkonen y Leppavouri, 1977; Hilakivi, 1983), así como la fentolamina y el prazocín (antagonista α_1 -adrenérgico)(Putkonen y Leppavouri, 1977; Jacobs y Jones, 1978; Hilakivi y Leppavouri, 1984; Tsai et al, 1993) aumentan las ondas lentas e incrementan la vigilia.

Los fármacos antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (de los cuales hablaremos con más detenimiento en otro apartado) conllevan la mayoría de ellos una disminución de sueño MOR, y sorprendentemente un afecto alertante. La posible explicación estaría en la aguda inhibición presináptica de la liberación de la serotonina (Nicholson et al, 1986). Fármacos como la fenfluramina, que actúan estimulando la liberación presináptica al mismo tiempo que inhiben la recaptura de 5-HT, conllevarían, pues, un efecto sedante en humanos. Por último, cabe mencionar el efecto regulador de 5-HT en las características del sueño NMOR: la ritanserina, antagonista específico de receptores 5-HT₂, en humanos provoca un aumento de sueño delta. Todas estas diferencias en la modulación del sueño que presenta el sistema 5-HT en humanos y en animales, parecen debidas a la diferente naturaleza de los distintos receptores según la especie.

2.3.3 Acetilcolina (ACh)

Desde los trabajos pioneros de Hernández-Peón se ha propuesto que la ACh es un importante modulador del sueño MOR (Hernández-Peón, 1965; Hernández-Peón y Chavez-Ibarra, 1963). Sus estudios mostraron que las inyecciones de cristales de ACh dentro de este circuito incrementan el SOL, mientras que lesiones o inyecciones de atropina (antagonista de los receptores muscarínicos) caudal a la inyección de ACh suprimen el efecto inductor de sueño (Velluti y Hernández-Peón, 1963). En este caso, se ha observado que las inyecciones de ACh en la médula caudal producen sincronización regular del EEG, mientras que su administración a nivel dorsal incrementa los signos del sueño (Rojas-Ramírez y Drucker-Colín, 1973). Desde esos primeros estudios, un gran número de trabajos con diferentes aproximaciones metodológicas han apoyado esta idea. Así, desde la administración sistémica hasta la microinyección regional y la inyección iontoforética en gatos y ratas, los estudios de actividad unitaria (Hobson, 1986) e inclusive la investigación preclínica (Gillin y Byerley, 1990) han dado sustento al papel de la ACh como moduladora del sueño MOR.

De hecho se ha sugerido que la FRP forma parte de los mecanismos neurales ejecutivos de esta fase del sueño y específicamente el campo tegmental gigantocelular (FTG) (Hobson et al, 1986). Lo anterior se basa en el hecho de que diversos fármacos colinérgicos administrados en el FTG inducen SMOR, por lo que se cree que esta región contiene neuronas que liberan ACh (Hobson et al, 1986). También se ha determinado que en el FTG, junto con la corteza y el cuerpo estriado, aumenta la liberación de ACh durante el sueño MOR (Jasper y Tessier, 1965; Gadea-Ciria et al, 1973; Kodama y Siegel, 1993) y que la descarga de sus neuronas se incrementa unos segundos antes y durante el sueño MOR y en la vigilia activa (Hobson et al, 1986). Si bien, los estudios histoquímicos no corroboran que las células del FTG sean colinérgicas al menos se ha considerado que sean colinoceptivas, es decir, que sean sensibles a la ACh (Shiromani et al, 1992). Además de que la lesión del FTG no altera mayormente los patrones normales de sueño (Drucker-Colín y Bernal-Pedraza, 1983; Sastre et al, 1981). Lo anterior ha permitido investigar qué estructuras son las encargadas de liberar la ACh que llega al FTG. En este sentido se ha demostrado primero, que los núcleos tegmentales PPT y LDT de la región mesopontina dorsal son colinérgicos y que además muestran proyecciones al FTG (Shiromani et al, 1988). Además, la estimulación eléctrica del núcleo PPT en ratas incrementa los niveles de ACh en el FTG (Lydic y Baghdoyan, 1993). Mientras que su lesión disminuye el sueño MOR (Webster y Jones, 1988), principalmente los MORs y las PGOs, expresándose solo los aspectos tónicos (Shouse y Siegel, 1992). En adición, la actividad unitaria de estos núcleos aumenta durante el sueño MOR (Mallick et al, 1989). Por lo anterior, se ha sugerido fuertemente que estos núcleos generan el sueño MOR.

Por otra parte, la estimulación colinérgica de la FRP con betanecol (Hobson et al, 1983), carbacol (Gnadt y Pegram, 1986), neostigmina (Baghdoyan et al, 1984) o fisostigmina (Sitaram et al, 1976) aumentan el sueño MOR. Dicho efecto es bloqueado por la administración de diversos antagonistas. De tal manera, que la atropina y la escopolamina, reducen la duración de los períodos de sueño MOR en gatos (Baghdoyan et al, 1985; 1989). Un estudio reciente ha demostrado que el bloqueo del transporte de vesículas sinápticas con ACh a las terminales sinápticas por un compuesto parecido al vesamicol, que se une a un receptor de la vesícula e inhibe el empaquetamiento presináptico de ACh y su liberación subsecuente, el cual se administra en la FRP medial, disminuye el tiempo total de sueño MOR por disminución de la duración de sus episodios (Carece et al, 1997). Adicionalmente, se ha evidenciado que en el puente existe un gradiente neuroanatómico de colinocepción para inducir SMOR, de tal manera que el

tegmento pontino dorsalis es el más sensible a la estimulación colinérgica para aumentar esta fase de sueño (Baghdoyan et al, 1987). En particular se ha observado que la administración de carbacol en la región peribraquial del tallo cerebral produce un aumento en la cantidad de sueño MOR y de SOL con PGOs de 2 a 4 días y hasta una semana posterior a la inyección (Datta et al, 1991).

Se ha determinado también, que la inyección de fármacos agonistas colinérgicos en el FTG que activan a los receptores muscarínicos M_2 incrementan el sueño MOR (Velazquez-Moctezuma et al, 1989). Lo que hace parecer que la generación del sueño MOR es mediada por los receptores M_2 al menos en el FTG relacionado con la inducción de SMOR (Gillin et al, 1993; Velazquez-Moctezuma et al, 1989). Recientemente, se han establecido, mediante técnicas de biología molecular en el FTG, hasta 5 tipos de receptores muscarínicos, encontrándose que el subtipo M_2 es el de mayor abundancia en esta región, con una distribución homogénea de la región rostral a la región caudal (Baghdoyan, 1997). Además, se ha visto que la cepa de ratas Flinders, con hipersensibilidad colinérgica, presenta mayor cantidad de receptores muscarínicos y de sueño MOR con relación a otras cepas (Shiromani et al, 1988). En fechas recientes, diversos trabajos han ratificado la importancia de los receptores M_2 en el sueño MOR (Imeri et al, 1991; 1992) Todos estos resultados sustentan la idea de la participación de la ACh en la regulación y mantenimiento del sueño MOR. Sin embargo, su acción podría depender, por un lado, de que cada subtipo de receptor muscarínico, en cada región, induzca cambios diferentes y específicos en las fases de sueño y en los procesos de desincronización cortical y, por el otro lado, de su capacidad para estimular otros sistemas, fundamentalmente endocrinos, como en el caso de la hormona del crecimiento (Takahashi et al, 1968; Ver revisión: Steiger, 2003), ya que, se ha observado que los fármacos colinérgicos aumentan la liberación de dicha hormona (Leveston y Cryer, 1980) mientras que diversos fármacos anticolinérgicos reducen su liberación asociada al sueño delta en humanos (Mendelson et al, 1978; Peters et al, 1986; Taylor et al, 1985; Ver revisión: Steiger, 2003).

El sistema colinérgico participa también en el control de otras fases del ciclo vigilia-sueño, posiblemente interaccionando con otros sistemas de neurotransmisión, como veremos después. De hecho se considera al sistema colinérgico de vigilia como el sistema reticular ascendente activador colinérgico y que su estimulación local colinérgica produce vigilia (Morgane, 1969). Además, se ha determinado que la inyección intravenosa de agonistas colinérgicos prolongan la vigilia en humanos (Gillin et al,

1978). Se ha demostrado, que la administración sistémica de atropina sincroniza el EEG, al mismo tiempo que aumenta dos o tres veces la liberación de ACh cortical (Celesia y Jaspers, 1966). Recientemente se ha observado, que la estimulación del receptor M2 en el área preoptica medial con triptamina (0.67 y 3.37 nmol) incrementa la vigilia y disminuye tanto al SOL como al sueño MOR (Imeri et al, 1996), en ese mismo sentido, el carbacol, agonista colinérgico, administrado en la misma región, también induce vigilia y, además, disminuye la temperatura, mientras que la escopolamina (bloqueador colinérgico), disminuye la vigilia además de incrementar la temperatura (Mallick y Alam, 1997). Esto hace evidente la importante participación del área preóptica medial en la regulación tanto de la vigilia como de la temperatura.

Con relación al SOL, la estimulación eléctrica y colinérgica de la formación reticular mesencefálica disminuye esta etapa (Próspero et al, 1993). También, la estimulación eléctrica del complejo PPT/LDT disminuyen la cantidad de husos de sueño y de ondas lentas, elementos que integran al SOL. En sentido contrario, la administración sistémica de atropina (antagonista colinérgico) induce ondas lentas y husos de sueño (Jouvet, 1972). Por lo anterior, podría suponerse que la ACh tiene una función permisiva del SOL. Por último, si bien el conocimiento de la interacción de la ACh-depresión-sueño es aún confuso, parece ser que existe una hiperexcitabilidad de los receptores colinérgicos en los pacientes con depresión endógena, lo que explicaría que la infusión de agonistas colinérgicos conlleve con mayor rapidez sueño en sujetos deprimidos que en sanos (Gillin et al, 1979).

2.3.4 interacción acetilcolina-monoaminas y sueño MOR

Desde hace más de 25 años se ha postulado que en el control del sueño existe una interacción entre el sistema monoaminérgico y el sistema colinérgico (Hobson, 1975; Koyama y Kayama, 1993). Un aspecto característico de la actividad neuronal del núcleo dorsal del rafe es la reducción en su actividad de disparo a casi cero durante el sueño MOR. Este fenómeno no es exclusivo de estas neuronas, también se aplica a la actividad neuronal del locus coeruleus noradrenérgico. Inclusive, ambas regiones se ha propuesto como áreas inhibitorias del sueño MOR (McCarley et al, 1995). Estudios farmacológicos indican que el incremento en los niveles sinápticos de serotonina por aumento de sus precursores (5-HTTP y l-triptofano) (Ursin, 1976) o por la administración de inhibidores selectivos de su recaptura (Ursin et al, 1989) reduce el sueño MOR. El sueño MOR es generado por la región pontina del tallo cerebral (Siegel, 1994). Diferentes estructuras en esta región, pero adyacentes, han sido implicadas en la generación del sueño MOR. El

papel de las neuronas colinérgicas mesopontinas en los núcleos PPT y LDT en la modulación del sueño MOR ya ha sido mencionada arriba. Se ha postulado que la modulación serotoninérgica del sueño MOR es mediada por receptores 5-HT_{1A} en los núcleos LDT y PPT. Existe evidencia de que estos núcleos pontinos reciben conexiones serotoninérgicas (Honda y Semba, 1994), y la serotonina es liberada en el núcleo PPT de manera dependiente del estado, como se ha reiterado, es mayor durante la vigilia y casi desaparece durante el sueño MOR (Strecker et al, 1999). Algunas neuronas en este núcleo se activan preferencialmente durante el sueño MOR, por lo que se les ha llamado REM-on, por sus siglas en inglés (McCarley et al, 1995). Mientras que lesiones en esta área disminuyen el sueño MOR, su estimulación eléctrica lo incrementa (Thakkar et al, 1998). Cuando estas neuronas son bañadas via microdialisi con el agonista serotoninérgico 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT, su actividad es casi completamente suprimida (Thakkar et al, 1998), lo que supone como resultado, una inhibición de las neuronas REM-on (McCarley et al, 1995). En consistencia con estos resultados, la microinyección de serotonina en el LDT suprime el sueño MOR (Horner et al, 1997). La infusión por microdialisi de un agonista en el núcleo dorsal del rafé incrementa el sueño MOR en gatos (Portas et al, 1996) y ratas (Bjorvatn et al, 1997), presumiblemente a través de la estimulación de autoreceptores en el rafé dorsal, reduciendo la liberación de serotonina y en consecuencia reduciendo la inhibición serotoninérgica sobre las neuronas generadoras del sueño MOR. La administración sistémica de un antagonista reduce el sueño MOR, presumiblemente a través de autoreceptores cuyo bloqueo incrementa la liberación de serotonina causando la inhibición del sueño MOR (Sorensen et al, 2000).

Otra área implicada en la generación del sueño MOR es el área adyacente al locus coeruleus, el peri-locus coeruleus alfa en el tegmento pontino medio-dorsal (Siegel, 1994). Las neuronas en esta área muestran un incremento en su actividad justo antes o durante el sueño MOR (Sakai, 1988), y cuando se lesiona se suprime el sueño MOR (Shouse et al, 1992). La aplicación por microdialisi de noradrenalina y adrenalina, pero no serotonina en esta área suprime el sueño MOR, mientras que la aplicación en el área rostral induce sueño MOR sin atonia (Crochet y Sakai, 1999). Estudios recientes han involucrado a los receptores M₃ del peri-locus coeruleus-alfa en la generación del sueño MOR en el gato, así la administración de carbacol en esta región del tegmento pontino mediodorsal incrementa hasta 5 veces el sueño MOR, mientras que este efecto es bloqueado por DAMP-4, un antagonista muscarínico M₁-M₃, pero no es revertido por pirenzepina (antagonista M₁) o metroctamina (antagonista M₂) (Sakai y Onoe, 1997).

Por otra parte, la administración de serotonina y NA al LDT de ratas anestesiadas, inhiben a más de dos terceras partes de las neuronas registradas, aunque algunas otras sean excitadas (Koyama y Kayama, 1993). Además, la 5-HT inhibe solo un tercio de las células del locus coeruleus, mientras que la NA hace lo mismo con las neuronas de los núcleos del refé dorsal (Shiromani et al, 1988). Por otra parte, la ACh inhibe a cerca de la mitad de las neuronas del núcleo rafé dorsal mientras que excita a menos del 50% de las células del locus coeruleus (Koyama y Kayama, 1993). Esto sugiere una acción colinérgica excitatoria sobre las neuronas del locus coeruleus y una acción noradrenérgica excitatoria sobre el complejo PPT/LDT y no de inhibición recíproca. Una hipótesis que trata de integrar todos estos resultados sugiere que una de las funciones del sueño MOR es aumentar la sensibilidad de los receptores noradrenérgicos, sobre regulando o previniendo la regulación decreciente de las neuronas del locus coeruleus y los niveles de NA que disminuyen durante esta fase de sueño (Para revisión ver: Siegel y Rogawski, 1988). Actualmente se cree que la NA juega un papel permisivo en relación al sueño MOR.

Las diferentes áreas relacionadas con el sueño MOR pueden ser importantes para aspectos fisiológicos diferentes de esta etapa de sueño y pueden interactuar en su generación (Siegel, 1994). En resumen, se ha sugerido que la serotonina y la NA tienen un papel importante en el mantenimiento de la vigilia y permisivo durante el sueño, particularmente durante el sueño MOR, mientras que la ACh controla al sueño MOR y modula la vigilia limitando su función a un papel permisivo durante del SOL (Kayama y Koyama, 2003).

3 NICOTINA, DEPRESIÓN Y SUEÑO

Los efectos importantes de la nicotina sobre el cerebro, la médula espinal y el sistema nervioso autónomo son mediados por receptores colinérgicos nicotínicos. Estos receptores, que normalmente responden al neurotransmisor acetilcolina, existen en varios subtipos que difieren en los detalles de su estructura exacta y características. Los receptores colinérgicos pueden dividirse en muscarínicos y nicotínicos basados en la actividad de los alcaloides agonistas naturales muscarina y nicotina. Estos receptores son, además, parte de una gran familia de canales iónicos que incluyen al receptor gabaérgico GABA_A; al serotoninérgico 5-HT₃ y a los receptores glicinérgicos. Los receptores colinérgicos nicotínicos neuronales (nAChRs) son receptores heterologos pentaméricos ionotrópicos (Na⁺ y Ca²⁺) con un peso molecular de 300 kDa,

aproximadamente establecidos presinápticamente a través del sistema nervioso central y postsinápticamente en el sistema nervioso autónomo que modulan la liberación de neurotransmisores y los potenciales ganglionares (Role y Berg, 1996). Los nAChRs representan una gran familia de canales catiónicos con diversas estructuras y propiedades que están compuestos de dos subunidades α y tres no- α , (comúnmente llamadas β) (ver revisión: Mihalescu y Drucker-Colín, 2000). En contraste a los nAChRs musculares, la función fisiológica de los nAChRs neuronales no ha sido bien definida. En vertebrados, existen once genes que codifican para las diferentes subunidades que componen a los nAChRs, lo que abre múltiples posibilidades de combinación y por tanto distintos nAChRs. Ocho de estos genes codifican para unidades α (α_2 - α_9), mientras que tres genes codifican para subunidades β (β_2 - β_4) (para revisión ver: Sargent, 1993). Las subunidades α_2 , α_3 , α_4 , α_5 , α_6 , α_7 , β_2 , β_3 , β_4 han sido clonadas en humanos (Sargent, 1993). Recientemente la subunidad α_{10} , que se coensambla funcionalmente con la subunidad α_9 , fue identificada y se expresa en la coclea, la hipófisis y los queranocitos (Sgard et al, 2002). Los nAChRs se han encontrado en corteza cerebral, tálamo, hipotálamo, hipocampo, ganglios basales, cerebro medio y posterior. La diferencia en composición de subunidades de los receptores nAChRs confiere distintas propiedades electrofisiológicas y farmacológicas. Ellos están asociados frecuentemente con los cuerpos celulares y axones de los sistemas de neurotransmisión mayores, y aparentemente participan en la regulación de la liberación de diversos neurotransmisores que incluyen catecolaminas, acetilcolina, GABA y glutamato (Benwell y Balfour, 1997; Marshall et al, 1997; Wonnacott, 1997). De hecho, la nicotina estimula la liberación de dopamina y norepinefrina en circuitos neuronales específicos involucrados estrechamente en las así llamadas funciones de recompensa (Benwell y Balfour, 1997; Marshall et al, 1997). Esta acción respalda la capacidad adictiva de la nicotina y es consistente con las acciones de drogas de abuso bien conocidas, como cocaína y anfetaminas. De este modo, diferentes tipos de nAChRs recombinantes tienen distintos perfiles en la potencia y eficacia de agonistas y antagonistas controlados por las subunidades α y β . Sin embargo, los nAChRs conformados por subunidades $\alpha_4\beta_2$ son cerca del 90% de los nAChR cerebrales totales y presentan los sitios de unión a la nicotina de mayor afinidad (Whiting y Lindstrom, 1986). Mientras que en ganglios autónomos, los nAChRs están conformados por subunidades $\alpha_3\beta_4$ junto con subunidades $\alpha_3\alpha_5\beta_4$ (Conroy y Berg, 1995).

Por otra parte, se ha establecido que el mecanismo que mantiene la conducta

de fumar cigarrillos es la adicción a la nicotina (U.S. Office on smoking and Health, 1988). La nicotina activa al sistema mesolímbico dopaminérgico de recompensa (Pontieri et al, 1996; Pidoplichko et al, 1997) y produce dependencia dando como resultado síntomas de abstinencia físicos y neurobiológicos ante el cese abrupto (Malin et al, 1992; Epping-Jordan et al, 1998). En modelos animales de adicción a drogas (roedores y primates) los sujetos estudiados son entrenados en un paradigma controlado para evitar los efectos aversivos de altas concentraciones de nicotina, en tales condiciones la nicotina es autoadministrada (Goldberg et al, 1981; Henningfield et al, 1983; Spealman y Goldberg, 1982; Wakasa et al, 1995). La nicotina actúa como un agonista para los nAChRs. Después del tratamiento crónico con nicotina (Marks et al, 1983a; Marks et al, 1983b; Schwarz y Kellar, 1983) el número de nAChRs se incrementa (para revisión: Wonnacott, 1990), particularmente el tipo más común en el cerebro de mamíferos, el heterómero $\alpha_4\beta_2$ (Whiting y Linstrom, 1988; Flores y Davila-García, 1997). El incremento en el número de nAChRs después del tratamiento crónico con nicotina ha sido asociado con el desarrollo de tolerancia conductual a la nicotina en modelos animales y tiene una relación estadísticamente significativa con la intensidad y la duración de la historia fumadora en cerebros humanos estudiados postmortem (Marks et al, 1983b; Breese et al, 1997). Esto es contrario a lo que sucede con muchos neurotransmisores en situaciones similares, por ejemplo la exposición crónica a agonistas muscarínicos o β -adrenérgicos induce una disminución en la densidad de los receptores (downregulation) muscarínicos (Churchill et al, 1984) o β -adrenérgicos (Stadel et al, 1983) respectivamente. Es bien conocido que la exposición crónica en fumadores o animales experimentales incrementa los sitios de unión a la nicotina. Se ha propuesto que este es una respuesta adaptativa de las neuronas a la acumulación de receptores desensibilizados crónicamente. La exposición crónica *in vitro* a la nicotina y a otros agonistas, de receptores compuestos por dos subunidades α_4 y tres β_2 , expresados en ovocitos de *Xenopus*, muestra un incremento en la cantidad de receptores, sugiriendo una regulación hacia arriba (up-regulation) de este receptor más que una respuesta adaptativa única de las neuronas en las que se expresa normalmente el receptor. La dependencia a la concentración de nicotina, el curso temporal y la amplitud de la regulación hacia arriba del receptor son similares a los reportados para receptores cerebrales. La regulación hacia arriba parece no requerir del flujo de iones a través del canal porque también es provocada por la mecamilamina, que bloquea el canal, y porque después de la exposición prolongada a la nicotina una mayor cantidad de receptores se hacen permanentemente incapaces de abrir sus canales en

respuesta a su unión con la nicotina (Peng et al, 1994). Los ligandos que inducen regulación hacia arriba al parecer también inducen cambios en la conformación del receptor que los hace que sean removidos de la superficie y degradados más lentamente. Así, la nicotina actúa como un antagonista de los nAChR después de su administración crónica, no porque el incremento en el número de receptores nAChR se asocie con un incremento en el RNAm para nAChR (Marks et al, 1992; Pauly et al, 1996) o un cambio en los parámetros de unión de la nicotina al receptor (Marks, 1983a; Schwartz y Kellar, 1983) sino más bien por una reducción en el recambio en nAChR y su acumulación en la superficie celular (Peng et al, 1994).

Por otra parte, estudios conductuales indican que los nAChRs cerebrales participan en funciones superiores como la atención, la memoria y la cognición, mientras que los datos clínicos sugieren su participación importante en la patogénesis de ciertos desordenes neuropsiquiátricos (enfermedades de Alzheimer y Parkinson, Síndrome de Tourette, esquizofrenia, depresión, hiperactividad por déficit de atención, etc.) (Para revisión: Glassman, 1993; Mihailescu y Drucker-Colín, 2000). Con el incremento en el conocimiento de la biología molecular de los nAChRs, nuevas moléculas con mayor selectividad para cada subtipo de receptor o que pueden ser moduladores alostericos de su funcionamiento, se están desarrollando. El ABT-418, por ejemplo, es un potente y selectivo ligando del subtipo de $\alpha_4\beta_2$ nAChR (Arneric et al, 1994). Estudios en modelos animales sobre los efectos cognitivos del ABT-418 han mostrado resultados positivos sobre la restauración de la ejecución de tareas en ratas septo-lesionadas, así como un incremento de la ejecución de tareas en primates (Garvey et al, 1994). Otros agonistas nicotínicos están siendo desarrollados, incluyendo al GTS-21, un derivado de la anabasina que podría tener actividad α_7 , capacidad neuroprotectora y potencial para incrementar el aprendizaje (Kem et al, 1994; Woodruff-Pak et al, 1994). El SIB-1663, que al parecer es selectivo para el receptor $\alpha_3\beta_4/2$, podría incrementar selectivamente la liberación de dopamina y reducir la catalepsia inducida por los neurolépticos (Boye et al, 2000). Para la mayoría de estos trastornos, el uso de agonistas nAChRs (dimetilfenilpiperazina, citisina, (+) anatoxina-a, y anabaseina) a los cuales se han añadido nuevos derivados sintéticos de la nicotina (p.e. epibatidina, SIB-1663, -1765F, -1508Y, -1553A, GTS-21, ABT-089, -418, -594, RJR-2403, -3403, DBO-83, etc.)(Ver ejemplo en la figura B), pueden representar una nueva terapia farmacológica (para revisión: Mihailescu y Drucker-Colín, 2000). Los nuevos agonistas nicotínicos selectivos pueden ofrecer significativas ventajas terapéuticas incluso sobre la nicotina misma. La investigación

continúa en múltiples direcciones promoviendo un mejor conocimiento del papel de los mecanismos nicotínicos en estados patológicos del sistema nervioso central y periférico para el desarrollo de agonistas nicotínicos selectivos para ensayos clínicos. Estos esfuerzos podrían abrir una nueva era en la farmacología de la nicotina y de los trastornos neuropsiquiátricos.

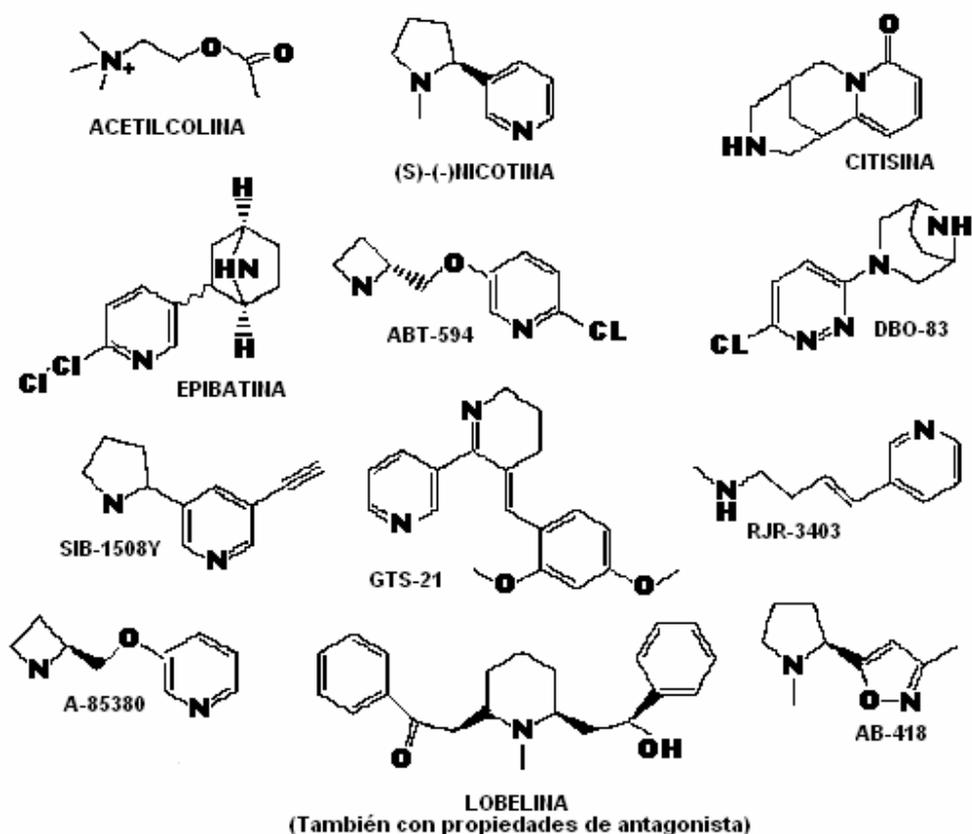


Figura B. Estructuras químicas de la acetilcolina y algunos ejemplos de agonistas nicotínicos.

3.1 Relación entre el sueño y la depresión

La incidencia de trastornos de sueño en los pacientes psiquiátricos va desde el 75% en los cuadros agudos, y de 35% en los trastornos mentales con duración mayor a 18 meses. El creciente conocimiento de la neurobiología del sueño ha permitido proponer diversas teorías sobre la patofisiología de los trastornos psiquiátricos. La premisa fundamental para entender la relación entre sueño y enfermedades psiquiátricas, es que

los cambios bioquímicos que subyacen a la fisiopatología de éstas, confluyen de algún modo con los mecanismos que regulan los diferentes estadios del dormir. Aún cuando existen alteraciones del dormir en muchas enfermedades psiquiátricas, sólo en algunas de ellas se han estudiado con profundidad. Como la depresión se ha estudiada en las últimas décadas más que cualquier otro síndrome psiquiátrico, los modelos han intentado explicar las características del sueño en la depresión, así como los efectos de los tratamientos antidepresivos, incluyendo el tratamiento farmacológico y la privación de sueño, en pacientes deprimidos (Gillin et al, 2000).

3.1.1 Características clínicas del sueño en pacientes con trastornos del estado de ánimo.

En términos generales, se puede considerar que existen seis alteraciones del estado de ánimo. Estas son: depresión mayor, alteración bipolar, distimia, ciclotimia, depresión atípica y alteraciones bipolares atípicas (p.e. estacionales) (American Psychiatric Association DSM-IV-TR, 2003; Nofzinger et al, 1993; Salín-Pascual, 2000; Wehr, 1990). Los trastornos asociados al sueño son muy frecuentes en los pacientes con alteraciones afectivas. Al menos 90% de los pacientes con alteraciones del estado de ánimo tiene trastornos del sueño (Diagnostic Classification Steering Committee, Thorpy MJ. 1990). Las alteraciones del dormir generalmente tienen mayor prevalencia en pacientes con depresión internados (80%), mientras que del 40-60% de los pacientes externos muestran anomalías relacionadas con el sueño (Armitage et al, 1997). Un reciente meta-análisis de múltiples reportes, sin embargo, indica que una sola variable del sueño no asegura la distinción entre los pacientes con depresión de los sujetos controles sanos o con algún otro desorden psiquiátrico, esto ha impulsado a algunos investigadores a concluir que el conjunto o la combinación de las variables de sueño es mejor para describir la naturaleza de las alteraciones del sueño en los pacientes con depresión (Benca et al, 1992). Así, se ha sugerido que aproximadamente 30% de los pacientes deprimidos sufren de hipersomnolencia más que de insomnio como anomalía dominante (Thase, 1998a). La dificultad para conciliar el sueño, el escaso efecto reparador del mismo, los despertares frecuentes y el despertar precoz, son síntomas que agravan y complican el cuadro depresivo (Buysse y Kupfer, 1993; Cartwright, 1993; Gillin et al, 1979; Thase y Kupfer, 1987). En el 70% de los casos los pacientes reportan insomnio, como la manifestación más importante sobre el sueño. Sólo algunos pacientes con depresión refieren hipersomnia. Estos últimos son pacientes con el diagnóstico de

ciclotimia y bipolares atípicos. Mientras que los pacientes con depresión mayor manifiestan como la queja más frecuente, la de padecer insomnio tardío (despertares prematuros con incapacidad para reiniciar el sueño). Mientras que una menor cantidad de pacientes refiere insomnio inicial (Nofzinger et al, 1993). Además, el paciente deprimido muestra dificultad para mantener el sueño (puede despertar varias veces durante la noche) y al despertar, percibir el sueño como superficial (Buysse y Kupfer, 1993; Cartwright et al, 1993; Gillin et al, 1979; Thase y Kupfer, 1987). Estas alteraciones han sido relacionadas a alteraciones psicomotoras, disminución del apetito y pérdida de peso (Buysse y Kupfer, 1993; Cartwright et al, 1993; Feinberg y Carroll, 1984; Gillin et al, 1979; Thase y Kupfer, 1987). Por otra parte las personas deprimidas no reportan cambios en sus ensoñaciones, sin embargo sus sueños suelen ser de naturaleza disfórica (Cartwright et al, 1993). Por otra parte, los pacientes maníacos muestran un patrón más o menos constante que se caracteriza por una disminución de la necesidad de dormir. Los enfermos con manía, con un promedio de 2 a 3 horas de sueño diario, tienen dificultad para iniciar y mantenerse el dormir. Esto tiende a presentarse en el inicio de la enfermedad de tal modo que es posible predecir un episodio maníaco obteniendo este dato precoz. El cuadro típico muestra que el paciente deja de dormir por unos días y luego se instala el cuadro maníaco (Wehr, 1990). Además de estos datos, el paciente bipolar se queja de somnolencia excesiva o siestas frecuentes que se asocian con ganancia de peso e incremento del apetito, y sin embargo sienten que su sueño fue reparador. De la importancia que tienen estos trastornos en el paciente deprimido se deriva la cantidad de estudios destinados a caracterizar el sueño en la depresión y conocer su relación con el tratamiento antidepresivo. Las anormalidades en el sueño en los pacientes con depresión mayor pueden clasificarse como: dificultades para iniciar y mantener el sueño, arquitectura anormal de sueño y interrupciones en la sincronización del sueño MOR (SMOR). Dentro de las dificultades para el inicio y mantenimiento del sueño se encuentra una latencia del dormir incrementada, vigilia intermitente y fragmentación del sueño durante la noche, además de despertar temprano con incapacidad para reiniciar el sueño, reducida eficiencia de sueño y disminución en el tiempo total del dormir. Con relación a la arquitectura del sueño, se han reportado anormalidades en la cantidad y distribución de los estadios del sueño de ondas lentas a lo largo de la noche. Esto incluye incremento en el sueño ligero (etapa 1) y reducciones en la cantidad del sueño delta (etapas 3 y 4). Diversos estudios polisomnográficos han determinado que la anormalidad más frecuentemente observada en la depresión endógena en adultos es el acortamiento de la

latencia del primer episodio de SMOR de la noche (cerca de 65 min.). La latencia para presentar el primer episodio de sueño MOR normal en un adulto joven es de 90 a 120 minutos y se considera acortada si está por debajo de 60 minutos. Este acortamiento en la latencia de sueño MOR puede ser un síntoma de otros trastornos psiquiátricos, sin embargo, en los pacientes deprimidos persiste aún después de la recuperación y podría ser un signo de vulnerabilidad a la depresión (Thase et al, 1998b). Además del acortamiento en la latencia de sueño MOR, los pacientes deprimidos muestran un aumento de la duración del sueño MOR, sobre todo en la primera parte de la noche (Gillin, 1983; Gillin y Borbely, 1985). El primer episodio nocturno de sueño MOR dura regularmente de 5 a 10 minutos. En el enfermo con depresión puede incrementarse hasta 30 minutos o más. Los pacientes deprimidos también muestran una densidad incrementada de movimientos oculares rápidos. El número de movimientos oculares rápidos por minuto de sueño MOR se denomina densidad de movimientos oculares rápidos, y es muy baja en un individuo normal para el primer episodio de sueño MOR de la noche y aumenta conforme transcurre la noche (Armitage et al, 1995; Berger y Riemann, 1993; Reynolds y Kupfer, 1987).

3.1.2 Relevancia clínica del sueño en pacientes con depresión

Si bien existen algunas discrepancias con relación a cuál o cuáles variables del sueño son las que mejor caracterizan a los pacientes con depresión, la importancia de la relación entre el sueño y la depresión es clara. Algunas de las características del sueño del enfermo con depresión persisten aun cuando el paciente esté en remisión de su sintomatología (p.e. eutimia), por lo que se ha propuesto que se trate de un marcador de rasgo genético. Inclusive algunos de los familiares de primer grado de estos pacientes muestran anomalías en el sueño MOR sin presentar signos o síntomas del trastorno. Si bien ello fue considerado como marcador biológico de la depresión endógena, también hay estudios en los que no se encuentran diferencias en estas características polisomnográficas entre sujetos deprimidos y sanos (Mendelson et al, 1987). Otros estudios enfatizan la idea de la existencia de una fuerte interrelación entre depresión endógena-edad-trastornos del sueño: las alteraciones neurofisiológicas de la depresión pueden interferir con las propias de la edad, exacerbando los trastornos del sueño (Goetz et al, 1987). Como se sabe el sueño MOR es función del tono colinérgico, es decir, que a mayor actividad o a mayor sensibilidad de los receptores colinérgicos, se observa una mayor duración del sueño MOR y un acortamiento de su latencia (Gillin et al, 1993). Sin

embargo, lo más importante entre las alteraciones del sueño y la depresión es que las primeras se han asociado con un significativo riesgo para recaída y recurrencia en la segunda (Fawcett et al, 1990; Ford y Kamerow, 1989) y un incremento en el riesgo de suicidio (Wingard y Berkman, 1983). Algunos estudios han mostrado que las variables del sueño, como la latencia de sueño MOR, pueden ayudar a predecir la respuesta al tratamiento y el curso clínico de la enfermedad (Buysse et al, 1994; Frank et al, 1992; Kupfer et al, 1990; Rush et al, 1982; 1986; Thase et al, 1994). También se ha sugerido que la naturaleza de las alteraciones del sueño en la presentación clínica inicial, podrían ser relevantes para la elección farmacológica del medicamento antidepresivo y para predecir los efectos colaterales del tratamiento (Armitage y Hoffmann, 1997). De todo ello cabe deducir que no hay una variable determinada que permita por sí sola caracterizar el sueño en la depresión endógena: es el análisis multivariante (el conjunto de algunas variables polisomnográficas) el que permitirá diferenciar la depresión endógena de otras afecciones (Gillin et al, 1979). Parece ser, además, que estas alteraciones referidas a la latencia de sueño MOR, permanecen estables a lo largo de la enfermedad (Gilles et al, 1989) y que pueden estar relacionadas con la vulnerabilidad a padecerla (Gilles et al, 1990). En el caso de los enfermos con manía, los datos polisomnográficos muestran una reducción del sueño delta, latencia acortada al primer sueño MOR, múltiples despertares a lo largo de la noche y sueño superficial. A diferencia de los enfermos deprimidos, los pacientes maníacos sí presentan dificultades para iniciar su sueño (Wehr, 1990). Por otra parte, estas alteraciones del SMOR en los sujetos con depresión, sobre todo los enfermos con manía, han sido observadas en otras enfermedades psiquiátricas, como la esquizofrenia (Feinberg et al, 1969).

Con todo ello, cabe preguntarse qué interacción existe entre estas alteraciones del sueño y la neurofisiología de la depresión. Así, de forma paralela a la investigación clínica, se han desarrollado una serie de hipótesis etiopatogénicas que intentan explicar esta relación. Entre las más importantes y que describiremos muy brevemente a continuación, están:

- 1.- La hipótesis del desequilibrio o desbalance colinérgico-aminérgico.
- 2.- El modelo de los dos procesos para la regulación del sueño.
- 3.- La hipótesis del avance de fase
- 4.- La hipótesis de la sobreactivación

5.- La hipótesis del sueño MOR

La hipótesis del desequilibrio o desbalance colinérgico-aminérgico para la depresión postula que la depresión se origina por un incremento en la relación entre la neurotransmisión colinérgica y serotoninérgica en sinapsis centrales críticas (Janowsky et al, 1972). Como varias características del sueño en los pacientes deprimidos (disminución de la latencia de sueño MOR y de sueño de ondas lentas) han sido simulados en voluntarios normales por pruebas farmacológicas, la hipótesis de interacción recíproca de la investigación básica del sueño y la hipótesis del desequilibrio o desbalance colinérgico-aminérgico de la psiquiatría clínica han concurrido. *El modelo de interacción recíproca* (McCarley, 1982) asume que que la alternancia cíclica del patrón sueño de ondas lentas y del sueño MOR se encuentra bajo control de redes neuronales noradrenérgicas/ serotoninérgicas y redes neuronales colinérgicas a través de la formación reticular pontina medial. El enlace entre los dos modelos sugiere a *grosso modo* que sí la depresión es el resultado de una disminución de la neurotransmisión serotoninérgica y noradrenérgica, la actividad colinérgica podría incrementarse y producir con ello las conocidas alteraciones de sueño observadas en la depresión. A pesar de que existen evidencias para cada componente de este modelo, los intentos experimentales no han podido demostrar las alteraciones coordinadas entre el sistema colinérgico y el serotoninérgico, al menos en términos de la regulación del sueño (Seifritz et al, 1998). En años recientes el papel de la serotonina en la regulación del sueño ha producido una creciente atención. La serotonina juega un papel importante en la patofisiología de la depresión y en su tratamiento principalmente porque todos los antidepresivos incrementan la neurotransmisión serotoninérgica que se cree esta asociada con el mejoramiento clínico (Blier y De Montigny, 1994). La depresión esta asociada con la desinhibición del sueño MOR (latencia acortada e incremento de la densidad de sueño MOR) y la serotonina induce una supresión del sueño MOR (Gillin et al, 2000). Así la regulación del sueño y la depresión comparten mecanismos patofisiológicos comunes a nivel serotoninérgico.

El modelo de los dos procesos de regulación del sueño, propuesto por Borbély propone que el sueño es regulado por dos procesos: uno homeostático, y uno circadiano (Borbély, 1982). En el paciente deprimido, el proceso homeostático sería deficiente. Este modelo esta apoyado por el incremento en la densidad de ondas delta en el espectro de poder del EEG durante el sueño en pacientes con depresión y por el hecho de que la privación de sueño incrementa tanto el proceso homeostático como el estado de ánimo

(Borbely et al, 1985). Este modelo extendido ha integrado tanto el proceso ultradiano como la interacción de las hormonas, como la hormona liberadora de hormona del crecimiento y el CRF, con las características del EEG (Ehlers y Kupfer, 1987; Ver revisión: Achermann, 2004).

El estado depresivo al parecer no solo está asociado con alteraciones de la homeostasis del ciclo sueño-vigilia sino también de la función circadiana o de su interacción. **La hipótesis del avance de fase** sugiere que en la depresión endógena el oscilador circadiano que controla el sueño MOR, la temperatura y la secreción de cortisol, se encuentra avanzado en relación al tiempo externo (Wehr et al, 1979). Esto se apoya en estudios que muestran que la latencia corta de sueño MOR podría inducirse en controles normales por un apropiado cambio de fase de las horas en cama.

Como se mencionó arriba, la privación de sueño tiene potentes efectos antidepresivos en más de la mitad de los pacientes con depresión. Esta observación ha impulsado a sugerir la hipótesis de que los pacientes deprimidos están “sobreactivados”. Más tarde fue propuesta como **la hipótesis de la sobreactivación** (Van den Burg y Van der Hoofdakker, 1975) y se apoya en el hecho de que el mejoramiento clínico inducido por la privación de sueño puede estar asociado con sentimientos subjetivos de mayor energía (activación), menos tensión y más quietud (desactivación) (Van den Burg et al, 1992). Otros datos observados en pacientes deprimidos que son consistentes con la hipótesis incluyen el corto, superficial y fragmentado patrón de sueño, bajo umbral de activación y elevada temperatura corporal por la noche. Esta hipótesis ha encontrado apoyo en estudios sobre el metabolismo de la glucosa cerebral, en los que se encontró un elevado en los pacientes deprimidos antes de la privación de sueño, lo que predijo beneficios clínicos, además de que la normalización de estos parámetros se asoció con el mejoramiento clínico (Ho et al, 1996) También se encontró que el metabolismo de la glucosa cerebral en el cíngulo y la amígdala eran mayores en los pacientes que respondieron al tratamiento que en los controles normales o en aquellos que no respondieron. Además de que la tasa metabólica de glucosa en los pacientes deprimidos se encuentra incrementada durante el primer episodio de sueño de ondas lentas (Ho et al, 1996).

La **hipótesis del sueño MOR** sobre la depresión se propuso sobre la base de que en la depresión, el sueño MOR está incrementado y que virtualmente todos los antidepresivos lo suprimen (Vogel et al, 1975; 1983; 1990), como veremos y

ahondaremos en el siguiente apartado.

Si bien ninguna de estas hipótesis consigue explicar por sí sola todas las interacciones existentes entre fisiopatología de la depresión y sueño, está claro que existe una interrelación biológica entre ambos. La cuestión básica a plantearse es si esta relación es causal y cuál es el mecanismo específico implicado. Un mayor conocimiento de los efectos que los fármacos antidepresivos, tanto en el ámbito de las alteraciones del sueño como en la depresión endógena, facilitará la comprensión de esta relación, sobre todo los fármacos que actúan de forma selectiva en el sistema monoaminérgico, por la mayor especificidad en su mecanismo de acción. El sistema monoaminérgico, los antidepresivos que actúan de modo específico en este sistema y sus efectos a nivel del sueño y de la depresión serán objeto de revisión en este trabajo.

3.1.3 Efecto de fármacos antidepresivos sobre el sueño de pacientes con depresión

El estudio de los efectos de varios antidepresivos sobre el sueño de sujetos sanos demuestra la relación entre las alteraciones neuroquímicas inducidas farmacológicamente, la respuesta clínica y los cambios en el EEG de sueño (Sharpley y Cowen, 1995; Thase y Kupfer, 1987; Vogel et al, 1990). Estos estudios también han ayudado a documentar la incidencia de alteraciones de sueño que ocurren específicamente como resultado de la medicación. No sorprende que diferentes tipos de antidepresivos tengan diferentes efectos sobre el sueño (Sharpley y Cowen, 1995; Thase y Kupfer, 1987; Vogel et al, 1990), e inclusive entre los compuestos individuales del mismo tipo. Los fármacos antidepresivos provocan una alteración importante en el sueño (para revisión: Armitage, 2000). La mayoría de los antidepresivos provocan una alteración en el sueño MOR: prolongación de la latencia de sueño MOR y una disminución/supresión del mismo (Vogel et al, 1990). Su acción sobre la consolidación y arquitectura del sueño es mucho más variable, pero podría ser clínicamente significativa para la respuesta clínica y la necesidad de un tratamiento mayor o concomitante. Si bien la actividad sobre el sueño MOR puede ser no específica, los cambios sobre la continuidad del sueño estarían relacionados íntimamente con el perfil farmacológico del antidepresivo (Nicholson y Pascoe 1989). Así, fármacos ISRS son alertantes, mientras que los que inhiben selectivamente la recaptura de NA provocan sedación (Nicholson et al, 1986; 1988).

3.1.1.1 Antidepresivos Tricíclicos (TCA)

Con excepción del iprindole y la trimipramina, los TCA son potentes supresores

del sueño MOR, prolongando su latencia y disminuyendo la cantidad de tiempo en sueño MOR (Feuillade et al, 1992; Senntag et al, 1996; Vogel et al, 1990; 1998; Ware et al, 1989; Wiegand et al, 1986). La clomipramina y la desimipramina son dos de los TCA más potentes supresores del sueño MOR, seguidos por la imipramina y la nortriptilina (Dunleavy et al, 1972; Kupfer et al, 1989; 1991; Shipley et al, 1984; 1985). La clomipramina, desimipramina y amitriptilina también incrementan la etapa 1 de sueño e incrementan la eficiencia de sueño sobre los niveles basales (Shipley et al, 1985). Como la clomipramina tiene los mayores efectos inhibidores sobre la recaptura de serotonina de todos los TCAs, no es sorprendente que tenga los mayores efectos alertantes sobre el sueño (Sharpley y Cowen, 1995). De esta manera, la clomipramina es probablemente mejor descrita como un ISRS más que un TCA tradicional (Kupfer et al, 1991). Ha sido interesante que la respuesta clínica a la amitriptilina y a la clomipramina parezca estar relacionada con el grado de supresión del sueño MOR (Gillin et al, 1978; Hochli et al, 1986; Kupfer et al, 1976) lo cual apoya la hipótesis de Vogel et al (1990). Como se mencionó arriba, la respuesta a la trimipramina no está relacionada con un decremento en la cantidad de sueño MOR (Senntag et al, 1996; Ware et al, 1989; Wiegand et al, 1986).

3.1.1.2 Antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS)

Mientras que las propiedades antidepresivas de los TCAs y de los viejos inhibidores de la monoaminoxidasa fueron descubiertas por casualidad, los ISRS fueron específicamente desarrollados como antidepresivos basados en los datos existentes que indicaban que la neurotransmisión serotoninérgica estaba comprometida con la depresión (Burke y Preskom, 1995). Muchos estudios publicados sobre los efectos de los ISRS sobre el sueño han sido enfocados sobre la fluoxetina.

a) Fluoxetina.

Entre los ISRSs, la fluoxetina presenta la más larga vida media, aproximadamente entre 1-3 días, mientras la norfluoxetina, su metabolito activo, permanece en el plasma por un periodo mucho mayor, 7-15 días (Altamira y Montgomery, 1990). Los estudios de sueño en pacientes con depresión muestran que la fluoxetina disminuye significativamente el tiempo total de sueño, tal reducción en general solo es de 3 a 5%. Sin embargo, los efectos sobre la latencia de sueño MOR son sustanciales, virtualmente duplican la latencia comparada a la línea base (Armitage y Hoffmann, 1997; Gillin et al, 1997; Hendrickse et al, 1994; Keck et al, 1991). Estos cuatro estudios también reportan

un incremento significativo de la etapa 1 en pacientes tratados con fluoxetina. También se ha reportado que la vigilia se incrementa con el tratamiento con ISRS, que se manifiesta en un incremento en el número de despertares o una disminución en la eficiencia de sueño (Armitage y Hoffmann, 1997; Kerkhofs et al, 1990; Keck et al, 1991). Una comparación doble ciego a gran escala entre dos antidepresivos indica que los 57 pacientes tratados con fluoxetina mostraron disminución significativa en la eficiencia de sueño en comparación con alprazolam, también presentaron un incremento en el número y porcentaje de despertares, disminución del sueño delta (etapas 3 y 4), incremento en la latencia de sueño MOR de 87 a 153 minutos y disminución de 3.5% en el tiempo total de sueño MOR con relación a la línea base (Rush et al, 1986). Además de que los efectos sobre el sueño de la fluoxetina fueron similares en los pacientes que respondieron al tratamiento y en los que no respondieron. No hay evidencia que sugiera que la respuesta clínica está relacionada con el grado de supresión del sueño MOR, en contraste con algunos estudios con TCAs (Gillin et al, 1978; Hochli et al, 1986; Kupfer et al, 1976). Un estudio preliminar sugiere que los efectos alertantes de la fluoxetina podrían también ser evidentes en niños y adolescentes con depresión sin que las variables del sueño MOR sean afectadas por el tratamiento (Armitage et al, 1997).

Un estudio más reciente sobre los efectos a largo plazo de la fluoxetina en 36 pacientes en fase aguda que respondieron al tratamiento reporta eficiencia de sueño disminuida, decremento de la etapa 2 e incremento de la etapa 1, prolongada latencia de sueño MOR y reducción de 3.4% del tiempo de sueño MOR después de diez semanas de tratamiento (Trivedi et al, 1999). Luego de 30 semanas de tratamiento, la latencia de sueño MOR permaneció alargada y el porcentaje del estadio 1 de sueño permaneció elevado comparado con los valores de la línea base. En consecuencia, al parecer existe algún grado de adaptación a la fluoxetina, los efectos alertantes sobre el sueño permanecen presentes después de las 30 semanas de tratamiento. Mientras que la discontinuación posterior se asoció con rebote de sueño MOR, sin embargo la mayoría de las variables no difieren de la línea base. Buysse et al (1999), sin embargo han mostrado que los efectos de la fluoxetina sobre el sueño MOR y el sueño de ondas lentas persisten por al menos 4 semanas después de discontinuar el tratamiento en mujeres con depresión (Buysse et al, 1999).

Diversos estudios han mostrado también que la fluoxetina está asociada con anormalidades significativas en los movimientos oculares y motoras durante el sueño,

particularmente durante los estadios de sueño ligero. Las anomalías oculomotoras inducidas por la fluoxetina aparecen en 30-80% de los pacientes adultos (Armitage, 1995; Dorsey et al, 1996; Schenck et al, 1992) y pueden hacerse evidentes en adolescentes y niños con depresión (Armitage et al, 1997). Sin embargo también se ha reportado que los TCAs exacerbaban los movimientos periódicos de las piernas durante el sueño (Roth et al, 1997) con una mayor incidencia para los ISRS. Además, dos artículos adicionales indican que la fluoxetina o la paroxetina exacerbaban el bruxismo (Ellison y Stanzani, 1993; Romanelli et al, 1996). De este modo, parece que la fluoxetina (y posiblemente otros ISRS) exacerbaban condiciones preexistentes e inducen anomalías oculomotoras en muchos pacientes, persistiendo estos efectos adversos aún después de discontinuar el tratamiento.

b) Paroxetina. En 16 pacientes con depresión tratados con paroxetina (20 mg/día por 4 semanas), el número de despertares y el número de cambios de estado (una medida de consolidación del sueño) se incrementó significativamente con relación a los valores control (Staner et al, 1995). La cantidad de sueño MOR disminuyó por cerca de 9%, mientras que la latencia de sueño MOR se incrementó a más del doble durante el tratamiento. Además, la discontinuación del tratamiento con paroxetina se asoció con un significativo rebote de sueño MOR, muy arriba de los niveles basales. Este estudio también mostró que los efectos sobre el sueño MOR eran similares en los pacientes que respondieron al tratamiento y aquellos que no, indicando que los cambios en el sueño MOR no se relacionan con la respuesta clínica, como previamente se había reportado con la fluoxetina (Kerkhofs et al, 1990). Es de hacer notar sin embargo, que la paroxetina está asociada al mejoramiento subjetivo del sueño pero no con los cambios en el sueño polisomnográfico en el insomnio primario (Nowell et al, 1999). Un estudio reciente ha mostrado que la paroxetina combinada con la privación total de sueño indujo una respuesta antidepresiva dos veces más rápida en 9 de 13 pacientes ancianos con depresión (69%) comparado un régimen terapéutico con paroxetina o nortriptilina sola (Green et al, 1999). De esta manera, la paroxetina no parece tener los efectos alertantes sobre el sueño como la fluoxetina. Sin embargo existen muy pocos estudios que sustenten esta conclusión.

c) Sertralina. Al igual que con la paroxetina, existen pocos estudios sobre los efectos objetivos de la sertralina sobre el sueño, y solo un estudio se ha realizado en pacientes con depresión. En un estudio de 6 semanas controlado con placebo, 23 pacientes con

depresión mostraron un sueño MOR prolongada y disminución en el tiempo total de sueño MOR, acompañados por disminución del tiempo total de sueño en respuesta a la sertralina (Winokur et al, 1992). Ningún otro efecto significativo fue notado. Más allá de esto no hay otros reportes que confirmen estos resultados.

d) Otros ISRS. Aparentemente la fluvoxamina también tiene efectos alertantes en pacientes con depresión. Kupfer y otros reportaron prolongación de la latencia de sueño, más tiempo en vigilia nocturna, incremento en la etapa 1 de sueño, latencia de sueño MOR tres veces más larga y una dramática reducción del tiempo de sueño MOR (10%) luego de 3 semanas de tratamiento con fluvoxamina en pacientes con depresión (Kupfer et al, 1991). Los efectos alertantes y sobre el sueño MOR fueron de acción rápida, efectos evidentes después de 1 ó 2 días del inicio del tratamiento. Este estudio confirmó datos anteriores sobre los efectos inmediatos de la fluvoxamina sobre el sueño de pacientes deprimidos (Berger et al, 1986). La zimelidina también incrementa la cantidad de vigilia durante la noche y muestra un efecto supresor de sueño MOR en pacientes con depresión (Kupfer et al, 1987). En contraste, el citalopram aparentemente suprime el sueño MOR e incrementa la latencia de sueño MOR sin efectos significativos sobre la continuidad del sueño o la vigilia nocturna en un estudio con pacientes luego de 6 semanas de tratamiento (Van Bommel et al, 1993), mostrando nuevamente que la respuesta clínica al tratamiento no se relaciona significativamente con los cambios en el sueño MOR.

3.1.1.3 Modulación de sueño MOR.

Si bien el efecto modulador de los antidepresivos en sueño MOR es bien conocido, la naturaleza de estos cambios y su significado dista lejos de ser entendido, y ello es debido a que esta acción no está ligada a un mecanismo específico (para revisión: Vogel, 1990). Así, la supresión o disminución de sueño MOR no es sólo vista con fármacos que modulan selectivamente la recaptura de serotonina o noradrenalina (Armitage et al, 1994; 1996; Nicholson et al, 1986; Vogel et al, 1998) ni aquellos que presentan una actividad anticolinérgica como la escopolamina (Sagales et al, 1975). La trimipramina, débil inhibidor de la recaptación de monoaminas conlleva así mismo un efecto en la disminución de sueño MOR, seguramente por un antagonismo de receptores α -adrenérgicos y por su acción anticolinérgica (Nicholson y Pascoe, 1989). El efecto de la trimipramina sobre el sueño MOR no es apoyado por otros trabajos (Mouret et al, 1989; para revisión: Chen et al, 1979). Los efectos de los fármacos inhibidores selectivos de las

monoaminas, parecían unir sus efectos antidepresivos a su efecto en la supresión o disminución de sueño MOR: la paroxetina, ISRS, produce una fuerte supresión de sueño MOR al mismo tiempo que mejora la sintomatología depresiva (Oswald y Adam, 1986). El efecto supresor de sueño MOR de la fluoxetina es consistente con su eficacia clínica (Kerkhofs et al, 1990). Este mismo efecto también se observó en sujetos sanos (Saletu et al, 1991; Vasar et al, 1994).

Recientes estudios con nuevos fármacos antidepresivos, en cambio, nos obligan a revisar lo conocido hasta ahora de la relación entre depresión, sueño MOR y antidepresivos. El bupropion, fármaco con efecto noradrenérgico y dopaminérgico, une su acción antidepresiva a una reducción de la latencia de sueño MOR y a un aumento de sueño MOR (Nofzinger et al, 1995; Ott et al, 2004). Se supone que en este caso la acción antidepresiva del fármaco es independiente de su efecto en sueño MOR, o bien, que hay un mecanismo, desconocido, que produce este aumento de sueño MOR asociado a su acción antidepresiva. La nefazodona, un nuevo y potente ISRS, no provoca ninguna alteración en los parámetros de sueño MOR (Vogel et al, 1998).

3.1.1.4 Actividad sobre la continuidad del sueño.

Así como el efecto sobre el sueño MOR es más inespecífico, la acción de los antidepresivos sobre la continuidad del sueño es más dependiente del perfil farmacológico de cada antidepresivo. Así pues, los ISRS presentan un efecto alertante, mientras que los inhibidores de NA lo presentan sedante. Ello parece estar relacionado con la interacción de los neurotransmisores con los receptores pre y postsinápticos: una liberación aguda del neurotransmisor en la sinápsis puede aumentar la inhibición presináptica de la transmisión (Nicholson y Pascoe, 1989). Otros antidepresivos con menos selectividad farmacológica actúan a través de una interacción de sus mecanismos, los cuales de forma aislada no presentarían efecto sobre el sueño. Por ejemplo, el efecto sedante de la trimipramina sería resultado de sus múltiples interacciones: su actividad antihistamínica, α_1 y dopaminérgica actuarían de forma sinérgica y conllevaría ese efecto sedante. (Nicholson y Pascoe, 1989).

3.2 Relación entre la nicotina y depresión

Estudios epidemiológicos en fumadores, realizados durante más de una década, sugieren una relación directa entre la nicotina y la depresión (Bergen y Caporaso, 1999;

Brown et al, 2000; Quattrochi et al, 2000). Existe una mayor prevalencia de fumadores entre personas con depresión (46%) que en la población en general (26%) (Pomerleau et al, 1995). Diversos estudios indican una alta incidencia de fumadores de cigarrillos entre los pacientes deprimidos. Además, los sujetos con una historia clínica de depresión tienen una mayor dificultad para dejar de fumar y un incremento en la probabilidad para recaer (Breslau et al, 1992; Covey et al, 1998; Hall et al, 1993; Niaura et al, 1999). Se ha observado también que durante el tratamiento para dejar de fumar los pacientes fumadores incrementan el riesgo de sufrir estados de depresión desde leves a severos (para revisión: Covey et al, 1998) y que además son independientes del género (Bock et al, 1996). Inclusive, los adolescentes con desordenes depresivos son 4.6 veces más propensos a fumar que aquellos sin un desorden depresivo (Ferguson et al, 1996). Por lo que se ha postulado que el hábito de fumar puede reflejar un intento de automedicación con nicotina por estos individuos. Aunque algunos estudios en animales (Balfour y Ridley, 2000; Djuric et al, 1999; Ferguson et al, 2000; Tizabi et al, 1999; 2000) y humanos (Salín-Pascual et al, 1995; 1996; Salín-Pascual y Drucker-Colín, 1998) sugieren que la nicotina puede actuar como un antidepresivo, se requiere, sin embargo, una importante verificación de estas hipótesis y el estudio de la participación del sistema colinérgico en la sintomatología de la depresión.

Así pues, en ratas se ha observado que la administración aguda de nicotina disminuye el sueño MOR y el sueño de ondas lentas de manera dosis dependiente a costa de un incremento en la vigilia. Mientras que las ratas tratadas crónicamente con dosis bajas mostraron un incremento de sueño MOR luego del tercer día, el tratamiento crónico con dosis altas redujo el sueño MOR y el tiempo total de sueño (Salín-Pascual et al, 1999). Los autores concluyen que los efectos agudos y crónicos del tratamiento con nicotina sobre el sueño son influenciados por la dosis utilizada.

En otros estudios, con enfermos deprimidos la administración de nicotina aumenta el tiempo de sueño MOR, sin cambio en otras variables y en etapas en las que no se fuma (Salín-Pascual et al, 1995), además de una reducción del 43.9% en la escala de Hamilton en los pacientes deprimidos no fumadores y en sujetos sanos. Otro ensayo señala que los pacientes deprimidos pueden mejorar con nicotina y en ellos el tiempo de SMOR aumenta mientras que en los voluntarios sanos, bajo el efecto de la nicotina, se puede presentar fragmentación y reducción del tiempo de sueño MOR (Pomerleau, 1998).

4 MODELOS ANIMALES DE DEPRESIÓN

La definición de modelos animales puede ser conceptualizada como preparaciones experimentales desarrolladas en una especie para estudiar los fenómenos que ocurren en otras. Así, por definición, cualquier modelo no es igual al proceso u objeto "modelado". Los modelos animales de psicopatologías humanas buscan desarrollar síndromes en animales que se reflejen en humanos para estudiar los aspectos de la psicobiología humana (Willner, 1991). Se han desarrollado algunos principios generales para elaborar los diferentes tipos de modelos conductuales, que permiten determinar cómo el modelo puede ser analizado dentro de las neurociencias, la psicología y la psicofarmacología. Hay tres tipos de modelos conductuales que corresponden a cada una de estas disciplinas: los que pueden usarse para estudiar la función cerebral, los utilizados para investigar procesos psicológicos o para determinar la acción de drogas. Estos tres tipos de modelos pueden ser referidos como bioensayos conductuales, simulaciones y pruebas de cernimiento o tamizado (Willner, 1991).

Las pruebas de cernimiento investigan nuevos agentes psicotrópicos y se basan en la acción de las drogas conocidas a través de dos tipos de estrategias: una para desarrollar drogas identificando agentes que tienen un tipo de acción clínica como los neurolépticos, antidepresivos o ansiolíticos. Las pruebas de esta clase son capaces de identificar drogas clínicamente efectivas que varían en su estructura química. Otra de las estrategias es identificar la acción bioquímica como blanco para el desarrollo de nuevas drogas. Los bioensayos conductuales permiten analizar el estado funcional de un sistema fisiológico. Uno de los usos del ensayo conductual es estudiar los mecanismos responsables de los cambios en la función cerebral que resulta de la administración de drogas, lesiones cerebrales u otras manipulaciones experimentales. Por último, los modelos animales que reproduzcan los hallazgos bioquímicos, fisiológicos o anatómicos son una herramienta para el análisis de distintas opciones terapéuticas en el humano. Las simulaciones de conductas humanas permiten, como el nombre lo indica, poder simular un síntoma, un grupo de síntomas o el trastorno completo. Existen diferentes métodos para reproducir un trastorno, ellos incluyen daño cerebral, selección de sublíneas; isogénicas, transgénicas, aplicación de fármacos, separación social y las debidas a la edad (Willner, 1991).

Por otro lado, cualquier modelo animal de trastornos psicopatológicos, y en particular los trastornos del afecto, se evalúa generalmente tomando tres criterios que se han orientado fundamentalmente a valorar tres aspectos cruciales: validez predictiva,

teórica y de apariencia (Willner, 1984; 1991). La validez predictiva se refiere a la capacidad del modelo para detectar fármacos con eficacia terapéutica. Esto es que el modelo nos permita identificar correctamente diversos tratamientos farmacológicos antidepresivos sin producir errores de omisión o comisión y correlacionar la potencia de tales sustancias en el modelo con su posible potencia clínica. Por lo que corresponde a la validez teórica esta será mayor cuanto más similares sean los fundamentos teóricos en el modelo y en la condición modelada. Esta correlación debe ser homóloga y debe ser interpretada sin ambigüedad. Por último la validez de apariencia consiste en la similitud fenomenológica entre el modelo y la depresión en sus múltiples aspectos. En general, esto se refiere a la medida en que el modelo animal propuesto reproduce la apariencia del cuadro depresivo que se presenta en los seres humanos. A través del tiempo se han ido generando modelos animales de depresión que cumplen en mayor o menor medida, con los requerimientos que implican cada grado de validez y que tienen gran relevancia en el estudio de la depresión. Uno de los modelos que más interés ha suscitado en la detección de fármacos con actividad antidepresiva es el modelo generado por Roger Porsolt *et al.* en los años setenta (1977; 1979; 1981). La prueba de Porsolt o de nado forzado (PNF) consiste en colocar a la rata, generalmente intacta, en un cilindro de vidrio lleno de agua hasta una altura de 15 cm durante 15 minutos. En los primeros minutos la rata presenta una actividad exploratoria donde salta, revisa las paredes, bucea explorando el fondo con la intención de escapar de tal situación. Después de unos minutos, esta actividad cesa y la rata adopta una posición característica. Erguida sobre las patas traseras y la cola, recarga una o ambas extremidades anteriores en la pared del cilindro manteniendo la cabeza levantada apenas arriba de la superficie del agua. El tiempo que dura esta inmovilidad es fácil de cuantificar. Debido a que las drogas antidepresivas reducen la duración de la inmovilidad en esta prueba, la PNF se ha convertido en la prueba más ampliamente utilizada para evaluar los efectos conductuales de drogas antidepresivas en su versión en ratas (Porsolt *et al.*, 1977; 1981; Borsini y Meli, 1988; Lucki, 1997). Con esta prueba, se han cernido una gran cantidad de drogas y los resultados apoyan la idea de que este modelo tiene un gran potencial predictivo de la eficacia terapéutica (Borsini y Meli, 1988; Porsolt, 1981). Además en los últimos años este modelo se aplica a ratas que han sido manipuladas para convertirlas en alguno de los modelos animales que reproducen algunos de los síntomas de la depresión, se ha corroborado que el tiempo de inmovilidad de esta prueba está en relación directa con los niveles de depresión (Porsolt *et al.*, 1977; Overstreet *et al.*, 1986; Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992). La PNF es

sensible a todas las clases de antidepresivos, incluyendo los tricíclicos (p.e. imipramina y desimipramina), inhibidores selectivos la recaptura de serotonina (ISRS; p.e. fluoxetina) y de noradrenalina (ISRNE; p.e. reboxetina), los inhibidores de la amino oxidasa (IMAOs; p.e. tranilcipromina y clorgilina) y los antidepresivos atípicos (p.e. iprindol, buspirona, mianserina y nomifensina) (Borsini y Meli, 1988; Bourin et al, 1996; Cesana et al, 1993; Da-Rocha et al, 1997; Detke et al, 1995a, 1995b; Nixon et al, 1994; Redrobe et al, 1996).

La PNF fue considerada originalmente como un modelo animal de depresión (Porsolt et al, 1977; 1981) con un importante nivel de validez predictiva, mientras que la conducta de inmovilidad fue vista como un reflejo del retardo psicomotor o de la anergia mostrada por muchos pacientes deprimidos, lo que le daba un cierto nivel de validez de apariencia, sin embargo, su sustento teórico ha sido controversial. Se ha sugerido que la PNF muestra cierta similitud con otros modelos como el desamparo aprendido, en cuanto a la incapacidad del sujeto para escapar a la situación estresante, de ahí que a la conducta de inmovilidad en la PNF se le llamara desamparo conductual. Formulaciones teóricas más recientes han sugerido otras relaciones conductuales que dan sustento teórico importante a diversos modelos conductuales de depresión, como el caso de la PNF (Dixon, 1998; Dixon y Fisch, 1998; Gilbert y Allan, 1998). En este sentido se ha propuesto que los síntomas psicopatológicos de la depresión pueden estar relacionados con la activación de mecanismos de defensa para responder a la amenaza y a la pérdida de control (p.e. conducta de inmovilidad). Tales mecanismos pueden volverse patológicos cuando son fácilmente activados o cuando se prolongan y son interrumpidos pero no expresados (arrested) y/o cuando son inefectivos (p.e. las conductas activas, nado y escalamiento). De esta manera, la inmovilidad conductual en la PNF es un mecanismo de defensa que libera al animal del estrés del nado forzado y que le permite alternar la postura de inmovilidad con las conductas de escape activo (nado y escalamiento) como parte de una estrategia para enfrentar al estrés (coping)(Thierry et al, 1984) o alternativamente, como reflejo de un estado específico del repertorio defensivo de los mamíferos conocido como interrupción del escape ("arrested flight"), que involucra la supresión de conductas exploratorias, para buscar escapar de la situación de estrés, como el nado y el escalamiento, y la adopción de posturas crípticas estáticas, como la inmovilidad, que protegen y permiten la vigilancia continua del medio que lo rodea, estas conductas se han correlacionado con el constructo psicológico de entrampamiento ("entrapment") observado y evaluado recientemente en la depresión endógena humana (Dixon, 1998; Dixon y Fisch, 1998; Gilbert y Allan, 1998; Fullilove, 2002; Willner y

Goldstein, 2001). En el contexto humano, la interrupción del escape o de la posibilidad de escapar ("arrested flight"), ha sido ligada al suicidio (Baumeister, 1990). Así, las bases teóricas de la inmovilidad conductual en la PNF pueden ser relacionadas con las variaciones en la depresión conductual inducida por el estrés como reflejo de conductas defensivas, como la interrupción del escape y el entrapamiento, observados en pacientes con depresión, lo que le proporcionaría al modelo de nado forzado no solo un importante valor predictivo sino un importante sustento teórico y de apariencia.

Por otro lado, existen también modelos animales que pretenden simular uno o varios de los signos de la depresión. Algunos de estos modelos pueden considerarse también como pruebas de cernimiento para nuevos fármacos antidepresivos. Partiendo del cuadro clínico de la depresión, solo ciertos síntomas pueden modelarse en animales. Entre estos están, la actividad locomotora, que en la gran mayoría de los casos tiende a disminuir, los trastornos del sueño, del apetito, disminución de la interacción social y por último disminución de las conductas motivadas por placer como es el caso de la conducta sexual y la respuesta a estímulos recompensantes (Willner, 1984; 1991; Velázquez-Moctezuma, 1994).

Recientemente se han generados una serie de modelos animales que son inducidos a través de la administración de fármacos con actividad antidepresiva, que bloquean la recaptura de las monoaminas (clomipramina, zimelidina, desipramina) (Vogel y Vogel, 1982; Hilakivi y Hilakivi, 1987; Rosenwasser y Heyes, 1993). Estos modelos se caracterizan porque los animales reciben un tratamiento farmacológico en la etapa neonatal semejando, en la edad adulta, los signos de la depresión endógena humana que pueden ser modelados en animales. Las ratas tratadas con antidepresivos en la etapa neonatal incrementan su actividad en campo abierto, la toma voluntaria de alcohol y el tiempo en de inmovilidad en la PNF, disminución de la conducta sexual, la conducta agresiva y las conductas de recompensa, todo ello en la edad adulta (Mirmiran et al, 1981; Vogel et al, 1990; Velázquez-Moctezuma y Diaz, 1992). Estas deficiencias pueden restaurarse con la administración de antidepresivos tricíclicos y con la privación de sueño MOR (Vogel et al, 1975; 1983). Estos modelos soportan en gran medida la validez de apariencia y la validez teórica.

El interés en nuestro laboratorio y en particular en este trabajo, es el modelo de depresión propuesto por Vogel y Vogel en 1982. Este modelo consiste en la administración de clomipramina (CLI) en la etapa neonatal para producir signos semejantes a la depresión en la edad adulta. Una de las ventajas que tiene esta modelo es que la administración de

CLI induce cambios de larga duración, esto permite estudiar con mayor facilidad, algunos signos de la depresión con tratamientos crónicos. A continuación se describirá este modelo más extensamente.

4.1 La administración neonatal de clomipramina (CLI): Un modelo animal de depresión inducido farmacológicamente

Los antecedentes para este modelo se obtuvieron del trabajo realizado por Mirmiran et al. en 1981, sobre el posible papel ontogénico del sueño MOR. Ellos se interesaron en la posibilidad de que el sueño MOR en la etapa neonatal podría jugar un papel importante en la conducta normal adulta. Para ello privaron de sueño MOR a ratas machos durante su periodo neonatal y observaron los efectos sobre la conducta en la edad adulta. La privación de sueño MOR fue inducida mediante la administración de CLI (poderoso supresor del sueño MOR). En la edad adulta, las ratas tratadas con CLI mostraron anormalidades en la conducta sexual y en la actividad locomotora cuando se compararon con animales control tratados neonatalmente con solución salina. Vogel y Vogel (1982) notaron que las anormalidades observadas en las ratas tratadas con CLI semejaban el síndrome de depresión endógena humana. Como se mencionó anteriormente, los pacientes que presentan esta enfermedad tienen anormalidades conductuales como disminución de la libido, cambios motores, principalmente retardo o agitación, y alteraciones en el patrón de sueño MOR. Las similitudes entre los pacientes deprimidos y las ratas tratadas con CLI neonatal, sugirieron que se reproducía un modelo animal de depresión endógena humana. Acorde con esta hipótesis, las ratas tratadas con CLI neonatal tienen características que también se presentan en la depresión endógena humana como son, alteraciones del sueño MOR, disminución de la conducta sexual, de la agresividad y de las conductas de búsqueda de placer (Bonilla-Jaime et al, 1998; Neill, 1990; Vogel et al, 1982, 1990a, 1990c, 1990d). El decremento que en humanos se manifiesta como disminución de la libido, en la rata deprimida se caracteriza por el incremento en la latencia de monta, de intromisión y de eyaculación, así como una frecuencia de eyaculación disminuida o en su caso la inactividad sexual (Bonilla-Jaime et al, 1998; Vogel, 1996). Además, se ha corroborado en este modelo un incremento en la inmovilidad en la prueba de nado forzado, bioensayo conductual utilizado para la detección de fármacos antidepresivos, lo que apoya la noción de que la cantidad de inmovilidad durante dicha prueba es directamente proporcional al estado depresivo en la rata (Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992). La administración de antidepresivos y terapias conductuales como la privación de sueño MOR restablecen las alteraciones conductuales

que se presentan en los animales tratados con CLI neonatal de manera similar a lo que se observa en seres humanos deprimidos (Vogel, 1990c). Una ventaja de este modelo es que las alteraciones que presentan son de larga duración, hasta los 8-10 meses de edad, y no transitorios como por ejemplo en los modelos inducidos por estrés. Recientemente se ha observado que la privación neonatal de sueño MOR a través de métodos instrumentales no farmacológicos, como en el caso de las ratas CLI, también disminuye la actividad sexual, disminuye la actividad agresiva e incrementa el porcentaje de sueño MOR (Feng y Ma, 2003). Estos resultados apoyan la idea de que la privación neonatal de sueño MOR, instrumental o farmacológica, causa conductas depresogénicas como las anteriores, que permanecen por largo tiempo durante la edad adulta.

El mecanismo por el cual el tratamiento neonatal con clomipramina produce sus efectos a largo plazo hasta inducir todo el conjunto de alteraciones descritas arriba y que semejan el cuadro clínico de la depresión en la edad adulta ha sido poco investigado. La clomipramina es un antidepresivo que inhibe preferencialmente la recaptura de serotonina que la de noradrenalina (Zandio et al, 2002), neurotransmisores que aparecen en el desarrollo temprano y cuyo mecanismo de recaptura es funcional desde el nacimiento, lo que lo hace farmacológicamente activo durante el periodo postnatal (Coyle y Axrod, 1971; Karki et al, 1962). Estudios sobre el desarrollo cerebral han revelado que las manipulaciones farmacológicas en un cerebro en desarrollo producen cambios de larga duración en los sistemas de neurotransmisión y en especial en la función monoaminérgica (Feestra et al, 1996; Vijayakumar y Meti, 1999). Incluso se ha sugerido que estas manipulaciones alteran el número de los receptores presentes en los cerebros maduros (Ver revisión: Whittaker-Azmitia, 2001). La serotonina influye sobre diversos procesos durante el desarrollo cerebral, incluyendo neurogénesis, apoptosis, migración celular, desarrollo axónico y dendrítico, sinaptogénesis y plasticidad sináptica (Whittaker-Azmitia, 2001). Además el sistema serotoninérgico alcanza su estado funcional en las etapas tempranas del desarrollo. Desde la etapa prenatal, los receptores serotoninérgicos son expresados por las neuronas y la glia a lo largo del desarrollo de las vías serotoninérgicas, además de que pueden ser reguladas por la exposición prenatal o posnatal a ligandos y drogas de los receptores a serotonina (Ver revisión: Whittaker-Azmitia, 2001). El mecanismo biológico utilizado por la serotonina para producir sus efectos puede tener como blanco directo la estabilidad del citoesqueleto y en particular en la regulación y el mantenimiento de los microtubulos y microfilamentos que podría estar mediado por las llamadas proteínas asociadas a microtubulos (MAPs) (Ver revisión:

Whitaker-Azmitia, 2001). Existen múltiples evidencias que involucran a los diversos receptores en estos efectos. Por ejemplo, el receptor 5-HT_{1A} aparece también en etapas tempranas y se encuentra en altos niveles en neuronas inmaduras e indiferenciadas, destinadas a convertirse en células gliales y neuronas, y decrece paulatinamente conforme estas se desarrollan, lo que sugiere que que estos eventos son dependientes de la serotonina. El receptor 5-HT_{1A} induce maduración y estimula la liberación de la proteína S-100β, factor importante en la extensión de las neuritas en diferentes tipos de neuronas (P.E. del tallo cerebral, del hipocampo, astrocitos corticales) permitiendo el desarrollo normal de estas regiones. Este receptor también participa en el ensamblaje del huso mitótico para promover la división celular e inclusive la tasa de diferenciación. Por otro lado, se ha postulado un periodo crítico del desarrollo cerebral alrededor del nacimiento para el humano y del día 7 al 21 postnatal (P7-P21) en la rata. Este periodo coincide con el pico de crecimiento cerebral y una exuberante producción de sinapsis (Anand y Scalzo, 2000). El transportador de serotonina es otro importante componente del sistema serotoninérgico involucrado en el desarrollo postnatal del sistema nervioso. En la rata, la densidad del transportador se incrementa entre el día P7 y alcanza su nivel máximo al P21 para decrecer progresivamente hasta el día P70. Los niveles del transportador de la edad adulta se alcanzan al día P28 en áreas de proyección como el hipocampo, el tálamo, el hipotálamo y la amígdala (Ver revisión: Whitaker-Azmitia, 2001), todas ellas relacionadas con la depresión endógena. El tratamiento neonatal con clomipramina (del día P8-P21) coincide con los eventos del desarrollo cerebral descritos arriba y podría modificar el equilibrio en las concentraciones de serotonina, sin descartar la noradrenalina, manteniendo un exceso del neurotransmisor durante este periodo crítico del desarrollo, pudiendo desensibilizar al receptor 5-HT_{1A} u otros receptores implicados también en el desarrollo cerebral como el 5-HT_{2A} o inclusive al mismo transportador de serotonina, (Ver revisión: Whitaker-Azmitia, 2001), y reduciendo o inhibiendo la síntesis de la proteína S-100β, u otros factores de crecimiento como el factor de crecimiento neural, y en consecuencia la formación de microtubulos o en su caso del huso mitótico derivando finalmente en el decremento en la formación de neuritas y sinapsis e inclusive alterando la división celular y la tasa de diferenciación. Estas modificaciones podrían a largo plazo inducir la expresión de las conductas alteradas observadas en estas ratas que las han sugerido como un modelo animal de depresión.

5. INTERACCIONES NICOTINA-SEROTONINA EN EL CEREBRO Y EN LA CONDUCTA

La vida media de la nicotina depende de la vía de administración. Cuando es inhalada a través del cigarro es de cerca de 2 horas mientras que la cotinina, su principal metabolito tiene una larga vida media de 19-24 horas (Ver revisión: Quinn et al, 1997). En la rata, luego de una sola inyección subcutánea de 0.8 mg/kg, la nicotina alcanza su pico máximo en plasma luego de 5-10 minutos y es eliminada muy rápido, acompañada de sus metabolitos, cotinina y nornicotina cuyas vidas medias cerebrales, por esta vía de administración, son de 52, 333 y 166 minutos respectivamente (Ver revisión: Quinn et al, 1997). Por otra parte, la mayor parte de la investigación sobre la nicotina se ha enfocado a sus efectos adictivos y su interacción con el sistema dopaminérgico. En todo caso, debido a la localización predominantemente presináptica de los receptores nicotínicos, la nicotina induce la liberación de diversos neurotransmisores, que incluyen a la acetilcolina (ACh), noradrenalina (NA), serotonina (5-HT), GABA y glutamato (Role y Berg, 1996; Vizi y Lendvai, 1999; Wonnacot, 1997; Wonnacot et al., 1989).

Por otro lado, debemos subrayar que hay una compleja interacción bidireccional entre los sistemas colinérgico y serotoninérgico y que la nicotina puede influir en la liberación de ambos. Así, por ejemplo, en el hipocampo dorsal, la estimulación de autoreceptores nicotínicos presinápticos estimula la liberación de ACh, a través de un receptor nicotínico que no contiene subunidades α_7 , mientras que la estimulación serotoninérgica de los heteroreceptores 5-HT_{1B} disminuye la liberación de ACh (Vizi y Kiss, 1998). Del mismo modo, la estimulación de los autoreceptores 5-HT_{1B} en el hipocampo dorsal disminuye la liberación de serotonina, mientras que la estimulación de los receptores nicotínicos incrementa su liberación (File et al, 2000b; Kenny et al 2000b; Lendvai et al, 1996). Así, cuando el tono serotoninérgico en esta región cerebral es incrementado, el tono colinérgico es disminuido, y viceversa. La liberación de ACh en la corteza es también disminuida por serotonina, actuando a través de receptores 5-HT₃ corticales (Giovanni et al, 1998; Maura et al, 1992). De la misma manera, la liberación de ACh en el estriado es inhibida por serotonina actuando en los receptores 5-HT_{1A} (Rada et al, 1993). Así, en diversas regiones cerebrales existen efectos probablemente inhibitorios entre los sistemas colinérgico y serotoninérgico y alguno de los efectos de la nicotina podrían ser el resultado del balance de sus efectos en estos dos sistemas.

5.1 Modulación nicotínica de la neurotransmisión serotoninérgica en el sistema nervioso central

Corteza

La administración sistémica de la nicotina (0.2 mg/kg sc) y el agonista nicotínico $\alpha_4\beta_2$ RJR-2403 incrementa significativamente la liberación cortical de serotonina en ratas en libre movimiento (Summers y Giacobini, 1995; Summers et al, 1996), mientras que otros agonistas no selectivos, como 5-fluoronicotina, noranhidroecgonina y piridilmetilpirrolidina no producen ningún efecto (Summers y Giacobini, 1995; Summers et al, 1996). Ribeiro et al. (1993) establecieron que la nicotina (1.6 mg/kg sc) incrementa significativamente la liberación cortical de serotonina, cuando se incluyó fluoxetina, inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina, en el medio de perfusión, sugiriendo que el nivel basal de serotonina puede ser importante en los efectos de la nicotina. La administración sistémica de nicotina (2-8 mg/kg sc) también incrementa la liberación extracelular de serotonina en la corteza frontal de ratas anestesiadas, pero, en contraste con el efecto en ratas en libre movimiento, este efecto es solo transitorio (Ribeiro et al, 1993). Estudios conductuales raramente se utilizan dosis de nicotina mayores que 0.5 mg/kg y las dosis que exceden de 1 mg/kg se considera que pueden tener efectos tóxicos. Así, los efectos de la nicotina dependen del tono previo de varios neurotransmisores y probablemente también de las diferentes dosis que podrían ser efectivas *in vivo*, en animales anestesiados e *in vitro*. No han sido observados sitios de unión para nicotina en axones serotoninérgicos en la corteza (Schwartz et al, 1984). Por ello se ha sugerido que el incremento en la liberación es probablemente debido a la estimulación de receptores nicotínicos localizados en los cuerpos celulares que proyectan corticalmente en el núcleo dorsal del rafé (NDR) (Summers y Giacobini, 1995; Summers et al, 1996). Además, los niveles de serotonina permanecieron inalterados cuando se aplicó nicotina (250 μ M y 2.5 mM) directamente al tejido cortical a través de una sonda de diálisis (Summers y Giacobini, 1995). Sin embargo, la administración de una alta concentración de nicotina (100 mM) por el mismo mecanismo, pero en el cíngulo y en la corteza frontal, resulta en elevados niveles de serotonina en estas áreas (Toth et al, 1992). No necesariamente media que la nicotina actué en un receptor localizado en las terminales serotoninérgicas, ya que el efecto podría ser mediado indirectamente vía la liberación de otro neurotransmisor.

La recaptura de serotonina desde la hendidura sináptica por proteínas transportadoras es el principal mecanismo para terminar con la actividad del neurotransmisor. La exposición prenatal a la nicotina (6 mg/kg/día; sc o por infusión vía minibombas osmóticas) ha mostrado un incremento significativo de la densidad del

transportador de serotonina en el cerebro anterior de ratas juveniles (Muneoka et al, 2001). Se ha observado que la exposición prenatal a la nicotina causa una reducción significativa del volumen de serotonina en el cerebro anterior, cerebelo y cerebro medio, sin embargo estos efectos parecen ser dependientes de la vía de administración de la droga (Muneoka et al, 1997). Finalmente, también se ha establecido que la nicotina modifica la expresión del gen del receptor 5-HT_{1A} en la corteza (Kenny et al, 2001). La nicotina (0.5 mg/kg ip) incrementa de manera significativa la expresión del RNA mensajero del receptor 5-HT_{1A} luego de 2 y 24 horas de administración, mientras que se disminuye luego de 7 días de tratamiento con nicotina (0.5 mg/kg/ ip dos veces al día) (Kenny et al, 2001).

Estriado

Estudios con inmunocitoquímica y microscopia confocal sugieren que las subunidades α_4 del receptor nicotínico y los receptores 5-HT₃ están colocalizados en terminales nerviosas en el estriado de la rata (Nayak et al, 2000). Esta es la primera evidencia directa de colocalización y fortalece la posibilidad de que la nicotina podría tener un efecto directo sobre la liberación de serotonina en esta región cerebral. ACh, nicotina (0.3 μ M y arriba) y los potentes agonistas nicotínicos epibatidina y citisina, incrementan significativamente la liberación de serotonina de los sinaptosomas estriatales, y su efecto es bloqueado por el antagonista nicotínico mecamilamina (Reuben y Clarke, 2000). El incremento en la liberación de serotonina estimulada por la nicotina en rebanadas de estriado, es incrementada de forma significativa después de 10 días de tratamiento con nicotina (1.76 mg/kg sc) (Yu y Wecker, 1994) y los efectos de la nicotina crónica son incrementados por la exposición al estrés (Takahashi et al, 1998). Luego de 7 semanas de administración de nicotina en ratones, vía el agua de beber, incrementa significativamente las concentraciones de 5-HIAA en el estriado, pero no de serotonina (Gaddnas et al, 2000).

Hipocampo

Basado fundamentalmente en evidencia neuroanatómica, la invasión de la formación hipocampal comprende los cuerpos celulares serotoninérgicos localizados en el núcleo del rafé medio y en el núcleo del rafé dorsal. Mientras que las proyecciones del núcleo del rafé medio invaden principalmente la formación hipocampal dorsal, el núcleo del rafé dorsal proyecta densamente a la formación hipocampal ventral (Mokler, 1998). Se ha mostrado que los agonistas nicotínicos 1,1-dimetil-4fenilpiperazina (DMPP) y la

lobelina incrementan la liberación de [³H] 5-HT en rebanadas de hipocampo de rata, aunque la citisina, la epibatidina y la nicotina (10 y 100 μM) no tienen el mismo efecto (Lendvai et al, 1996). Recientemente se ha encontrado también que la nicotina (0.01-100 μM) no tiene efecto sobre la liberación de serotonina en los sinaptosomas hipocampales (Reuben y Clarke, 2000). No obstante, Kenny et al. (2000b) establecieron que la exposición a la nicotina (50-500 μM) de rebanadas de hipocampo dorsal de rata, incrementa la liberación de [³H] 5-HT de manera dependiente de la concentración. Este efecto fue antagonizado por mecamilamina (0.5 μM), aún cuando mayores concentraciones de mecamilamina por si sola incrementan significativamente los niveles de serotonina, sugiriendo que la mecamilamina bloquea tónicamente los nAChRs activos localizados en las terminales colinérgicas dando como resultado una disminución de la liberación de ACh lo que podría enmascarar el mecanismo inhibitorio muscarínico M₁ sobre la liberación de serotonina (File et al, 2000a, 2000b; Kenny et al 2000b). Esto puede ser apoyado principalmente por la observación de que el antagonista colinérgico M₁, pirenzepina, incrementa la liberación hipocampal de serotonina (Kenny et al, 2000b). Finalmente, ellos sugieren que el incremento en la liberación de serotonina podría ser inducido solamente por altas concentraciones de nicotina (Kenny et al, 2000b). Sin embargo, los efectos pueden suceder a bajas concentraciones en condiciones de alta ansiedad, donde la liberación de glicina esta incrementada. La glicina (20 mM) incrementa significativamente los efectos de la nicotina sobre la liberación de serotonina evocada por potasio en rebanadas de hipocampo dorsal (File et al, 2000b). Sin embargo, otra vez, no hay evidencia de que los efectos de la nicotina son el resultado de una acción directa sobre receptores presinápticos localizados en terminales serotoninérgicas. Kenny et al. (2001) establecieron que la nicotina (0.5 mg/kg ip) administrada agudamente incrementa significativamente los niveles del RNA mensajero para el receptor de serotonina 5-HT_{1A} en las regiones CA3 y CA1 del hipocampo dorsal 2 y 24 h después de la inyección. Los resultados sugieren que la regulación de la expresión del receptor 5-HT_{1A} puede ser un mecanismo por el cual la nicotina actúe para modular la neurotransmisión serotoninérgica. Esto podría llevar a la rápida tolerancia a este efecto de la nicotina, puesto que no hay ningún efecto mayor después de 7 días de tratamiento con nicotina (0.1 mg/kg/día sc) cuando los efectos de la nicotina (50-200 μM) son significativamente reducidos, sin embargo permanece un efecto significativo sobre la liberación de serotonina (Irvine et al, 2001b). En un estudio de microdiálisis in vivo, el tratamiento crónico con nicotina (0.4 mg/kg sc por 21 días) disminuye las concentraciones de serotonina en el hipocampo

dorsal (Ridley y Balfour, 1997). Esto esta acorde con previos estudios donde se observa una disminución de la serotonina hipocampal después del tratamiento crónico con nicotina (0.4 mg/kg sc por más de 20 días) (Benwell y Balfour, 1979). En contraste, Takada et al (1995) reportaron un incremento en las concentraciones de serotonina y su metabolito principal 5-HIAA después del tratamiento crónico con nicotina (0.4 mg/kg/día sc por 14 días). Ellos sugieren que los efectos de la nicotina en el sistema serotoninérgico cerebral dependen de la duración del tratamiento.

Núcleo dorsal del rafé

La nicotina (10-300 μ M) induce un incremento dependiente de la concentración en la liberación de serotonina en cortes del cerebro medio de la rata en cual va acompañado por un incremento y un decremento de la tasa de disparo de las neuronas del núcleo del rafé dorsal (Mihailescu et al, 1998). La serotonina liberada fue mucho mayor durante la disminución en la tasa de disparo, lo cual sugiere una acción de la nicotina sobre los receptores presinápticos de las neuronas serotoninérgicas. Cuando se administra mecamilamina, antagonista nicotínico, después de la nicotina, revierte inicialmente los efectos estimuladores sobre la tasa de disparo y la liberación de serotonina, pero más tarde incrementa significativamente ambos parámetros. Probablemente estos efectos excitatorios e inhibidores indirectos de la nicotina ocurren en el núcleo del rafé dorsal y juega papeles fisiológicamente opuestos (Mihailescu et al, 1998). Li et al. (1998) encontraron que la aplicación del agonista nicotínico DMPP (15 μ M) en las neuronas del núcleo del rafé dorsal *in vitro* induce ambas respuestas de despolarización e hiperpolarización en presencia de atropina, lo cual es bloqueado por la mecamilamina. Además la hiperpolarización inducida por DMPP fue bloqueada por el antagonista 5-HT_{1A} pindobind, mientras que la despolarización inducida por DMPP fue mimetizada por el agonista α_1 fenilefrina, bloqueado por el antagonista α_1 prazosin, y prolongado por el inhibidor de la recaptura de noradrenalina nisoxetina (Li et al, 1998). Así, la activación del receptor nicotínico parece evocar la liberación de noradrenalina y serotonina y por ello activar los receptores α_1 y 5-HT_{1A} en las neuronas del núcleo del rafé dorsal. De estos estudios Li et al. (1998) proponen que las fibras colinérgicas (de las neuronas colinérgicas de los núcleos laterodorsal y pedunculopontinos) activadas por los receptores nicotínicos presinápticos localizados en neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus y en neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafé dorsal facilitan la liberación de noradrenalina y serotonina en las neuronas del núcleo del rafé dorsal.

En ratas anestesiadas, la administración sistémica de nicotina (50-400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iv) induce una inhibición transitoria de la mayoría de las neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafé dorsal (Engberg et al, 2000). La inhibición también fue bloqueada por el antagonista selectivo 5-HT_{1A} WAY 100635 (0.1 mg/kg iv), indicando que la nicotina incrementa la liberación de serotonina y que un posible autoreceptor somatodendrítico 5-HT_{1A} está involucrado en los efectos de la nicotina. Es interesante que la aplicación microiontoforética de nicotina (2.5-20 nA) en el núcleo del rafé dorsal no inhibe a las neuronas serotoninérgicas, sugiriendo un efecto indirecto de la nicotina sobre las neuronas serotoninérgicas, posiblemente involucrando vías aferentes (Engberg et al, 2000). Cuando ratas anestesiadas fueron retiradas del tratamiento con nicotina (6 mg/kg/día vía minibombas osmóticas) luego de 12 días, se observó un incremento en la sensibilidad al agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, en las neuronas serotoninérgicas en el núcleo del rafé dorsal (Rasmussen y CzACHura, 1997).

Guzman-Marin et al. (2001) establecieron que la nicotina (0.1 mg/kg sc) incrementa la tasa de disparo de las neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafé dorsal durante el sueño MOR, sin ningún cambio significativo durante el SOL o la vigilia. Puesto que las neuronas que contienen serotonina en el núcleo del rafé dorsal virtualmente cesan de disparar cuando el animal entra a sueño MOR y consecuentemente disminuye la liberación de serotonina durante este estado (Monti y Monti, 2000), los resultados mencionados arriba proporcionan también evidencia de que el tono basal de serotonina puede ser importante para los efectos de la nicotina.

Hipotálamo

La administración sistémica de nicotina, tanto aguda como crónica en ratas, incrementa los niveles de serotonina en el hipotálamo (Dominiak et al, 1984; Kirch et al, 1987; Takada et al, 1995), aunque la tasa de síntesis de serotonina permanece inalterada (Mitchell et al, 1989). En ratones expuestos a dosis progresivamente incrementadas de nicotina en el agua de beber durante 7 semanas, no hay cambios en las concentraciones de serotonina, pero hay un incremento en las concentraciones de 5-HIAA que continúan por 24 h después de que la nicotina es retirada (Gaddas et al, 2000). Miyata et al. (1999) encontraron que la infusión de nicotina sistémica en ratas por 7 días causa un incremento de serotonina (y dopamina) en el hipotálamo lateral medido por microdiálisis *in vivo*, y acompañado por hipofagia. En estudios subsecuentes, ellos observaron que la infusión de

nicotina en el hipotálamo lateral, vía la técnica de microdiálisis reversa, suprime la ingesta de alimento e incrementa considerablemente los niveles hipotalámicos de serotonina durante el periodo completo de administración de nicotina (Yang et al, 1999). En sus estudios recientes, ellos demostraron que la administración crónica de nicotina disminuye la ingesta de alimento y esto podría estar relacionado a un incremento en la actividad dopaminérgica y serotoninérgica en el hipotálamo lateral y en el núcleo ventromedial (Meguid et al, 2000).

5.2 Interacciones nicotina-serotonina en la modulación de la ansiedad.

Núcleo del rafé dorsal

El núcleo del rafé dorsal ha sido identificado como un importante sustrato neuroanatómico que media el efecto ansiolítico de la nicotina. Dosis bajas de nicotina (2.5-10 ng) administrada directamente en el núcleo del rafé dorsal inducen efectos ansiolíticos en la prueba de interacción social de ansiedad (Cheeta et al, 2001a). Esto es similar al patrón observado previamente cuando el agonista específico del receptor 5-HT_{1A}, el 8-OH-DPAT, fue administrado en esta región (Higgins et al, 1988; Hogg et al, 1994; Picazo et al, 1995). Los efectos ansiolíticos de la nicotina fueron completamente antagonizados por la coadministración en el núcleo del rafé dorsal de una dosis conductualmente inactiva del antagonista 5-HT_{1A}, WAY-100635 (Cheeta et al, 2001a). Esto sugiere que los efectos ansiolíticos de la nicotina son mediados por un incremento en la liberación de serotonina en el núcleo del rafé dorsal, lo cual estimula a los autoreceptores serotoninérgicos, generando una reducción en la tasa de disparo de las neuronas serotonina y un subsiguiente decremento en la liberación de serotonina en las regiones terminales del sistema límbico (Sprouse y Aghajanian, 1987).

El efecto ansiolítico de la nicotina intra- núcleo del rafé dorsal es revertido completamente por una dosis silente (que sola no produce efecto) del antagonista nicotínico $\alpha_4\beta_2$, DH β E (Cheeta et al, 2001b). Esto sugiere que la liberación de serotonina inducida por la nicotina es mediada por receptores presinápticos nicotínicos de alta afinidad, probablemente del subtipo $\alpha_4\beta_2$. La participación de este subtipo de receptor en la liberación de serotonina en el núcleo del rafé dorsal podría ser consistente con el resultado de que las corrientes evocadas por la nicotina, podrían no ser evocadas de las neuronas del núcleo del rafé dorsal en el ratón que carece de una o de ambas subunidades α_4 y β_2 (Cordero-Erausquin et al, 2000).

Septum lateral

En contraste con el patrón observado en el núcleo del rafé dorsal, cuando se inyecta en el septum lateral, la nicotina (1 y 4 μg) tiene efectos ansiogénicos en las pruebas de interacción social y del laberinto elevado (Ouagazzal et al, 1999). Estos efectos ansiogénicos fueron observados luego de la inyección bilateral de 8-OH-DPAT en el septum lateral y los efectos de ambos fármacos, nicotina y 8-OH-DPAT, fueron antagonizados por la administración concomitante de WAY 100635 (Cheeta et al, 2000a). Esto sugiere que los efectos de la nicotina son mediados indirectamente por la estimulación postsináptica de receptores 5-HT_{1A}. Sin embargo, los efectos de la dosis mayor de nicotina (8 μg) fueron solo parcialmente antagonizados por WAY 100635, lo que abre la posibilidad de que la nicotina puede tener efectos ansiogénicos a través de la liberación de otro neurotransmisor en esta región, como la noradrenalina.

Los efectos de mecamilamina cuando se administra en el septum lateral revela la presencia de un tono colinérgico endógeno que actúa para incrementar la ansiedad. Así, una baja dosis de mecamilamina (15 ng) tiene un significativo efecto ansiolítico. Este tono colinérgico no fue máximo pero podría ser incrementado por la administración de nicotina, resultando en un efecto ansiogénico. Esto podría explicar porque el efecto ansiogénico de la nicotina podría no ser revertido por 30 ng de mecamilamina (la cual no tiene efecto cuando se administra sola), pero podría ser revertido por una dosis mayor (50 ng) (Ouagazzal et al, 1999). En una dosis mayor (100 ng), la mecamilamina tiene un efecto ansiogénico (File et al, 2000a). Esto podría indicar la presencia de una segunda población de nAChRs en esta región cerebral en la cual el tono colinérgico tiene una función ansiolítica. Alternativamente, los efectos de esta alta dosis de mecamilamina podría ser debida a su acción antagónica sobre los receptores NMDA. El sistema colinérgico interactúa con muchas otras vías de neurotransmisión y, mientras que hay evidencias de que los efectos ansiogénicos de la nicotina en el septum lateral son mediados vía el sistema serotoninérgico, esto no ha sido probado para la mecamilamina en esta misma región. Es posible que los efectos ansiogénicos de la mecamilamina estén mediados indirectamente por el incremento en la liberación de serotonina y los efectos ansiolíticos están mediados por el tono colinérgico endógeno en los heteroreceptores. Sin embargo, estos heteroreceptores pueden no estar en terminales serotoninérgicas e interactuar con otro neurotransmisor como la noradrenalina, si bien esto no puede ser la regla.

Hipocampo dorsal

En la prueba de ansiedad por interacción social, bajas dosis de nicotina (0.5-5 ng) fueron inefectivas cuando fueron administradas en el hipocampo dorsal (Cheeta et al, 2000b), mientras que dosis altas (0.1-8 μ g) fueron ansiogénicas (File et al, 1998b). Sin embargo, el efecto ansiogénico de la nicotina fue dependiente de las condiciones de la prueba. En condiciones de baja y alta ansiedad, la nicotina no tuvo efecto, mientras que en condiciones de ansiedad moderada tiene efectos ansiogénicos. El antagonista nicotínico mecamilamina (30 y 100 ng) administrado directamente en el hipocampo dorsal tiene efectos ansiogénicos en la condición de prueba generando baja ansiedad, pero permaneció sin efecto en condiciones de moderada y alta ansiedad (File, 1998a; 2000a). En condiciones de baja ansiedad, el antagonista muscarínico pirenzepina, también tiene un efecto ansiogénico (File et al, 1998a). Esto sugiere que en las condiciones de baja ansiedad, hay un tono colinérgico endógeno que actúa para reducir la ansiedad, pero que este tono está reducido en condiciones de alta ansiedad. Los efectos ansiogénicos de la nicotina y la mecamilamina fueron revertidos por WAY 100635, implicando un papel para los receptores serotoninérgicos postsinápticos (File et al, 2000b; Kenny et al, 2000a). Esto podría estar acorde con los resultados de que ambos compuestos, nicotina y mecamilamina pueden incrementar la liberación de serotonina en rebanadas de hipocampo dorsal (Kenny et al, 2000b). Estos dos efectos en apariencia están mediados por dos nAChRs distintos en el hipocampo dorsal, la mecamilamina actúa en autoreceptores nicotínicos en terminales colinérgicas, mientras que la nicotina actúa en un heteroreceptor en la terminal serotoninérgica (si esta existe) o indirectamente vía la liberación de otro neurotransmisor. Otra evidencia de que la nicotina y mecamilamina actúan en poblaciones de receptores diferentes viene de los efectos de la glicina, la cual incrementa la liberación de serotonina estimulada por la nicotina, por un mecanismo sensible a estricnina, pero bloquea la liberación de serotonina inducida por mecamilamina por un mecanismo sensible a estricnina. Los efectos de la mecamilamina son mejor vistos en condiciones de baja ansiedad, cuando hay un alto tono colinérgico endógeno, mientras que los efectos de la nicotina son expresados en condiciones de un tono serotoninérgico y glicinérgico incrementado (ver: File et al, 2000b).

Retiro del tratamiento crónico con nicotina

El retiro del tratamiento crónico con nicotina en la rata muestra respuestas ansiogénicas en la prueba de interacción social y en el laberinto elevado (Irvine et al,

1999; 2001a; Cheeta et al, 2001a), y un incremento en la respuesta al miedo auditivo (Rasmussen y Czachura, 1997). El retiro de los ratones del tratamiento crónico con nicotina muestra respuestas ansiogénicas en la prueba de cruce luz-oscuridad (Barnes et al, 1990; Costall et al, 1990). Esta respuesta es revertida por la administración sistémica de antagonistas del receptor 5-HT₃ (Barnes et al, 1990) y el incremento en la respuesta al miedo auditivo fue revertido por la administración sistémica de antagonistas del receptor 5-HT_{1A} y exacerbado por el agonista del receptor 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT (Rasmussen y Czachura, 1997). El agonista parcial 5-HT_{1A}, buspirona, alivia el incremento en la ansiedad experimentado por fumadores durante el retiro del cigarro (West et al, 1991). Hasta aquí, dos regiones cerebrales han sido identificadas como mediadoras de los efectos del retiro de la nicotina sobre la ansiedad. La nicotina (5 ng) administrada en el núcleo del rafé dorsal revierte la respuesta ansiogénica al retiro de la nicotina detectada en la prueba de interacción social (Cheeta et al, 2001a) y el antagonista 5-HT₃, ondasetron, administrado en el núcleo del rafé dorsal revierte la respuesta ansiogénica al retiro de la nicotina detectada en la prueba de cruce luz-oscuridad (Costall et al, 1990). Esto hace que el núcleo del rafé dorsal sea probablemente el sitio de acción de los antagonistas 5-HT₃ administrados sistemicamente. No obstante, también podría ser también el sitio de acción de ligandos del receptor 5-HT_{1A}, dado el patrón de sus efectos. Podría ser que ellos actúen en una o más regiones terminales del rafé, donde la estimulación de receptores 5-HT_{1A} tiene efectos ansiogénicos. El hipocampo dorsal podría ser una posibilidad, dado que una baja dosis de nicotina (5 ng), inefectiva en ratas control, administrada en esta región revierte la respuesta ansiogénica al retiro de la nicotina detectada en el laberinto elevado (Irvine et al, 2001a).

5.3 Interacción nicotínico-serotoninérgicas en efectos estimulantes y recompensantes.

5.3.1 Estimulación locomotriz

Una dosis aguda de nicotina puede causar un pequeño incremento en la actividad locomotriz, pero los efectos son mucho mayores después de un periodo de administración crónico cuando hay sensibilización de esta respuesta (e.g., Benwell y Balfour, 1992; Clarke et al, 1988). Probablemente los efectos estimulantes son mediados por la activación de receptores postsinápticos dopaminérgicos en el núcleo accumbens (Benwell y Balfour, 1992; Clarke et al, 1988). La administración sistémica de 8-OH-DPAT (0.5 mg/kg sc) potencia el efecto estimulante de la nicotina aguda (1 mg/kg sc). Cambiando el

tono de serotonina por depleción de los niveles con 5, 7-DHT, o aumentándolo con la administración del ISRS citalopram, no cambia la estimulación locomotriz causada por una dosis aguda de nicotina (Olausson et al, 1999). Sin embargo, las modificaciones del tono serotoninérgico modifica la sensibilización de la estimulación locomotriz. El efecto estimulante de la nicotina crónica fue disminuido por el tratamiento con paraclorofenilalanina (pCPA), la cual depleta a la serotonina (Fitzgerald et al, 1985; Olausson et al, 1999) y por un incremento en el tono de serotonina causado por el tratamiento crónico con el ISRS, citalopram o el agonista 5-HT₂, DOI (Olausson et al, 1999). Así, el incremento y el decremento en el tono serotoninérgico previenen la expresión de la estimulación locomotriz, sugiriendo que este efecto de la nicotina es manifestado solamente en condiciones de un tono moderado. Esto es similar a los efectos de la nicotina sobre la ansiedad, las cuales son expresadas en condiciones generadoras de ansiedad moderada y no en condiciones de muy alto o muy bajo tono (File et al, 2000b).

Hay evidencias de que los receptores 5-HT₃ podrían estar involucrados en los efectos estimulantes de la nicotina crónica, ya que el pretratamiento con altas dosis de antagonistas 5-HT₃ como el tropisetron (1 mg/kg sc) significativamente reducen estos efectos (Arnold et al, 1995; Corrigan y Coen, 1994). Sin embargo, bajas dosis de un amplio rango de antagonistas 5-HT₃ no pueden antagonizar los efectos estimulantes locomotrices de la nicotina, sugiriendo que estos receptores probablemente no son el sitio blanco para modular estos efectos. La participación de los receptores 5-HT₄ también ha sido excluida. Readvill et al. (1998) pretrataron animales con nicotina (0.4 mg/kg sc por 8 días), pero el antagonista 5-HT₄, SB-2040707-A (0.1-3 mg/kg ip) no pudo contrarrestar la hiperactividad resultante. Un reciente experimento ha proporcionado evidencia de que los receptores 5-HT_{2C} pueden estar involucrados en el incremento de la actividad locomotriz seguida de la sensibilización por nicotina, ya que Ro 60-0175, un agonista 5-HT_{2C}, bloquea la actividad incrementada de manera dosis dependiente (Grottick et al, 2001).

5.3.2 Preferencia de lugar, autoadministración y autoestimulación.

Si bien se ha observado una preferencia de lugar condicionada por la nicotina, los estudios han sugerido que este paradigma no puede ser una prueba fuerte para medir los efectos reforzadores de la nicotina comparados con otras drogas como la amfetamina, cocaína o morfina (Jorenby et al, 1990; Parker, 1992; Shippenberg et al, 1996). Sin embargo estudios recientes sugieren que la cepa y la dosis de nicotina son factores

importantes en el establecimiento de la preferencia de lugar condicionada inducida por la nicotina. (Risinger y Oakes, 1995; Horan et al, 1997). Un claro papel para los receptores 5-HT₃ puede estar establecido en los efectos mediados por la nicotina en las pruebas de preferencia de lugar. La preferencia de lugar condicionada fue establecida usando una dosis de entrenamiento de 0.6 mg/kg de nicotina y la preferencia por el lado asociado fue antagonizado por los antagonistas del receptor 5-HT₃, ICS-205-930 y MDL-72222, de manera dosis dependiente (Carboni et al, 1988). Este antagonismo es muy probablemente debido a una acción sobre los receptores 5-HT₃ por modificar la liberación de dopamina, ya que el ICS 205-930 antagoniza la estimulación de la liberación de dopamina inducida por la nicotina en el núcleo accumbens de gatos en libre movimiento (Carboni et al, 1989), además de que los agonistas del receptor 5-HT₃ causan liberación de dopamina en el núcleo accumbens (Chen et al, 1991; Jiang et al, 1990). Estos resultados sugieren nuevamente que el tono serotoninérgico puede jugar un papel permisivo en la expresión de los efectos de la nicotina. Cuando el retiro de la nicotina fue precipitado con mecamilamina, esta indujo aversión de lugar, lo cual fue atenuado por el pretratamiento con el antagonista 5-HT₃ ondansetron (Suzuki et al, 1997). Estos resultados sugieren que el antagonismo de los receptores 5-HT₃ puede mitigar el estado aversivo inducido por el retiro de la nicotina y estos resultados son consistentes con lo observado por Costall et al. (1990) ya que el ondansetron atenúa los efectos ansiogénicos del retiro de la nicotina en el ratón. Estos resultados sobre la preferencia de lugar sugieren que el incremento en la liberación de dopamina es igual de importante en señalar un estado aversivo como en denotar una recompensa. Por otra parte, hay alguna evidencia para un involucramiento de los receptores 5-HT_{2C} en la autoadministración de la nicotina, ya que una dosis relativamente alta de Ro 60-175 (1 mg/ka), un agonista serotoninérgico, reduce la autoadministración de nicotina (Grottick et al, 2001).

En contraste con los efectos sobre la preferencia de lugar, Corrigall y Coen (1994) establecieron que los antagonistas 5-HT₃, no afectan la autoadministración de la nicotina. Estos resultados están en armonía con los resultados clínicos de que el fumar no es afectado por el tratamiento con antagonistas del receptor 5-HT₃ (Park et al, 1993; Zacny et al, 1993). Además, los resultados sugieren que estas diferencias pueden ser importantes entre las varias pruebas al proporcionar una medida de los aspectos recompensantes de las drogas, y que cada prueba puede reflejar diferentes aspectos de la recompensa.

Montgomery et al. (1993) establecieron que la administración aguda de nicotina (0.4 mg/kg ip) inicialmente deprime la autoestimulación en el hipotálamo lateral, pero que

esto fue seguido por un periodo de respuesta facilitado. Luego del tratamiento crónico con nicotina, hay sensibilización para este efecto de respuesta facilitada. El ondasetron (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sc), antagonista 5-HT₃, reduce la depresión inicial de autoestimulación por una dosis aguda de nicotina, pero no la facilitación o la sensibilización a la facilitación. Ivanova y Greenshaw (1997) encontraron que la nicotina crónica (0.6 mg/kg) reduce el umbral para la autoestimulación del área tegmental y sus efectos fueron antagonizados por mecamilamina (1 mg/kg sc), pero no por el antagonista muscarínico escopolamina (3 mg/kg sc) o el antagonista 5-HT₃ ondasetron (0.01 y 0.1 mg/kg sc).

En varias conductas, incluyendo temblor de cola (Suemaru et al, 2000), ansiedad (File et al, 2000a, 2000b; Cheeta et al, 2001a), miedo (Rasmussen et al, 1997), existe importante evidencia de que los efectos de la nicotina son mediados por receptores 5-HT_{1A}. Si bien los receptores 5-HT₃ están involucrados en mediar la preferencia de lugar inducida por la nicotina (Carboni et al, 1989), lo que no ha sido observado en otras medidas sobre los efectos recompensantes de la nicotina. El posible papel de los receptores 5-HT_{1A} en la mediación de la conducta de búsqueda inducida por la nicotina no ha sido investigado. Esto es una lástima ya que se ha mostrado que el antagonista WAY 100635 (pero no el antagonista 5-HT₂, ritanserina), reduce la necesidad de cocaína (Schenk, 2000). Se ha mostrado que el bupropion reduce el deseo por la nicotina durante el cese de fumar (Hurt et al, 1997; Jorenby et al, 1999), lo que sugiere que el bupropion es un antagonista no competitivo del receptor nicotínico (Fryer y Lukas, 1999; Slemmer et al, 2000) actuando preferencialmente en receptores del subtipo $\alpha_3\beta_2$, este podría ser su sitio primario de acción. La más fuerte evidencia es que los efectos de la nicotina son mediados por los receptores 5-HT_{1A} y es interesante que los agonistas del receptor nicotínico y del receptor 5-HT_{1A} puedan tener acciones como ansiolíticos y antidepresivos. Sin embargo, las acciones antidepresivas de ambos compuestos pueden ser ligadas primordialmente a sus efectos ansiogénicos que son evidentes en altas dosis más que sus acciones ansiolíticas con dosis altas.

En conclusión, existen importantes evidencias de que la nicotina incrementa la liberación de serotonina en varias regiones cerebrales, si bien hay poca evidencia aún de que esto es resultado de un efecto directo de la nicotina sobre heteroreceptores presinápticos colinérgicos en terminales serotoninérgicas. No obstante, es claro que el tono serotoninérgico juega un papel permisivo crucial en la expresión de los efectos de la nicotina y que esto puede ser visto a nivel de la liberación de serotonina y sobre los efectos de la nicotina en diferentes conductas. Esto es importante porque indica que los

resultados de preparaciones *in vitro* o registros electroencefalográficos de ratas anestesiadas no pueden proporcionar resultados que sean extrapolables a condiciones *in vivo*.

6 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para la generación de alternativas terapéuticas en cualquier enfermedad, particularmente en los desordenes psiquiátricos, es de primera importancia la existencia de modelos animales en los cuales ensayar y mejorar posibles alternativas farmacológicas y terapéuticas. En las últimas décadas se han generado diferentes modelos animales de depresión que tienen utilidad ya sea como simuladores del cuadro clínico psiquiátrico o como preparaciones en las que se pueden valorar drogas con potencial terapéutico. Las drogas existentes tienen efectos colaterales indeseables y efectos terapéuticos benéficos a largo plazo que reducen la adherencia terapéutica, además de que un número significativo de pacientes con depresión resistentes al tratamiento (casi un tercio) no obtienen una respuesta satisfactoria. No hay duda de que se necesitan nuevos tratamientos antidepresivos con mayor especificidad e inclusive con nuevos mecanismos de acción.

Por otro lado, la relación entre la nicotina y la depresión ha sido sugerida por estudios epidemiológicos en sujetos fumadores. Diversos estudios reportan el papel antidepresivo de la nicotina tanto en modelos animales de depresión como en sujetos deprimidos no fumadores y en pacientes con depresión endógena no medicados. La conexión entre la nicotina y la depresión es mayormente sugerida por el hecho de que la nicotina transdérmica puede mejorar el estado de ánimo de pacientes deprimidos. Además de que fármacos antidepresivos como el bupropion han mostrado ser una ayuda para dejar de fumar. Aunque los efectos hedónicos de la nicotina han sido ampliamente demostrados en humanos y animales muy pocos estudios han examinado el potencial papel del sistema nicotínico en el tratamiento de la depresión. Por otro lado, el papel de la nicotina y de los receptores nicotínicos en el sueño es controversial. Como se ha descrito anteriormente, el descubrimiento de una posible relación recíproca entre la nicotina, la depresión y el sueño ha sido de gran importancia, siendo de gran significado para los tratamientos farmacológico y terapéutico del trastorno y de su sintomatología con relación al ciclo sueño-vigilia. La interacción de los sistemas nicotina-serotonina, podría permitir un mejor conocimiento acerca de la etiología de la enfermedad, así como de su manifestación en el sueño y en

particular sobre el papel del sueño de movimientos oculares rápidos. El estudio de las alteraciones del sueño en las ratas tratadas neonatalmente con clomipramina nos permitirá sugerir las posibles modificaciones colinérgicas y monoaminérgicas, tanto en sus mecanismos neuroquímicos como en el sustrato neuronal que las regulan, en este modelo. La reproducción del modelo de depresión inducido por la administración neonatal de clomipramina abre la posibilidad de evaluar el posible papel antidepresivo de la nicotina y su posible interacción con fármacos que de sobra han demostrado su capacidad antidepresiva en la práctica psiquiátrica diaria.

El objetivo principal del presente trabajo es aportar más datos y fortalecer las evidencias preclínicas referentes a la posible participación de la nicotina como antidepresivo o como coadyuvante o potenciador del tratamiento farmacológico de los trastornos anímicos y de las alteraciones de sueño observadas en el modelo animal de depresión y finalmente en la depresión endógena humana.

7 HIPÓTESIS

La coadministración aguda, subcrónica y crónica de nicotina-fluoxetina (ISRS) en ratas adultas tratadas neonatalmente con clomipramina (ratas CLI) disminuirán el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado (PNF), además de modificar positivamente las alteraciones de sueño que sufren estos animales con mayor efectividad que con el tratamiento con uno solo de los dos fármacos. Mientras que los mismos tratamientos en animales intactos tendrán un efecto diferencial entre ellos y posiblemente opuesto en relación los animales CLI.

8 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la administración aguda, subcrónica y crónica de nicotina sobre el patrón de sueño y la inmovilidad en la PNF de ratas intactas y sobre las alteraciones de sueño y la inmovilidad en la PNF en un modelo animal de depresión inducido por la administración neonatal de clomipramina (ratas CLI) ambos tratados aguda y crónicamente con fluoxetina (ISRS).

9 OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el patrón de sueño, la inmovilidad y las conductas activas en la PNF de ratas intactas después del tratamiento agudo (1 día), subcrónico (8 días) y crónico (14 días) con el inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina (ISRS), fluoxetina.

- Evaluar el patrón de sueño, la inmovilidad y las conductas activas en la PNF de ratas CLI después del tratamiento agudo (1 día), subcrónico (8 días) y crónico (14 días) con el ISRS, fluoxetina.
- Evaluar el patrón de sueño, la inmovilidad y las conductas activas en la PNF de ratas intactas después del tratamiento agudo (1 día), subcrónico (8 días) y crónico (14 días) con nicotina.
- Evaluar el patrón de sueño, la inmovilidad y las conductas activas en la PNF de ratas CLI después del tratamiento agudo (1 día), subcrónico (8 días) y crónico (14 días) con nicotina.
- Evaluar el patrón de sueño, la inmovilidad y las conductas activas en la PNF de ratas intactas después del coadministración aguda (1 día), subcrónica (8 días) y crónica (14 días) con el ISRS fluoxetina y nicotina.
- Evaluar el patrón de sueño, la inmovilidad y las conductas activas en la PNF de ratas CLI después del cotratamiento agudo (1 día), subcrónico (8 días) y crónico (14 días) con el ISRS fluoxetina y nicotina.

10 METODOLOGÍA

1. Animales intactos

Se utilizaron ratas Wistar macho (250-300 g) intactos producidos en el bioterio de la UAM se mantuvieron en condiciones habituales de bioterio en un cuarto con temperatura controlada (23 ± 1 °C) con un ciclo normal de luz/obscuridad 12:12 (la luz se prendió a las 9:00 AM y se apagó a las 9:00 PM), con agua y pellets de alimento ad libitum.

2. Animales tratados neonatalmente con clomipramina (ratas CLI)

Ratas Wistar hembras (250-300 g) producidas en el bioterio de la UAM-I, fueron apareadas hasta obtener 15 hembras gestantes, que se mantuvieron en condiciones habituales de bioterio y sin manipulación. Las hembras adultas e intactas, se colocaron en presencia de machos expertos permitiéndoles la cópula hasta que los machos alcanzaron al

menos dos eyaculaciones. Los animales se mantuvieron en un cuarto con temperatura controlada (23 ± 1 °C) con un ciclo invertido de luz/obscuridad 12:12 (la luz se prende a las 9:00 AM y se apaga a las 9:00 PM), con agua y alimento a libre demanda. El día del parto fue registrado como el día cero. Luego de tres días se sexaron dejando solo los machos, se formó un solo grupo y a partir del mismo se asignó aleatoriamente y como máximo, 8 críos por madre, tratando de conservar un porcentaje similar de machos. Los críos fueron aleatoriamente asignados a uno de los siguientes tratamientos: A) inyección subcutánea de clomipramina (15 mg/kg en un volumen de 0.1 ml); B) Inyección subcutánea de solución salina (grupo control) en el mismo volumen (0.1 ml). Estos tratamientos fueron administrados diariamente desde el día 8 hasta el 21 de edad. Después de ser destetados, a los 30 días de edad, se les separó en grupos de 5 animales y se les mantuvo en las mismas condiciones de alojamiento hasta los 3-4 meses de edad (250 – 350 g) antes de implementar cualquier prueba experimental. Durante este periodo, las ratas tuvieron agua y comida a libre acceso.

A) EFECTOS SOBRE LA CONDUCTA DE INMOVILIDAD Y LAS CONDUCTAS ACTIVAS EN LA PRUEBA DE NADO FORZADO

Los animales intactos fueron sometidos a la prueba de Porsolt o nado forzado para la determinación de la cantidad de inmovilidad y las conductas activas los días 1, 7 y 14 con el tratamiento respectivo y el día 21 luego de 7 días de abandono del tratamiento crónico. Por otro lado, en la edad adulta, todos los animales tratados neonatalmente con CLI y solución salina fueron sometidos a la prueba de Porsolt o nado forzado para la determinación de la cantidad de inmovilidad y las conductas activas de nado y escalamiento también los días 1, 7 y 14 del tratamiento respectivo y el día 21 luego de 7 días de abandono del tratamiento crónico. Los animales intactos fueron divididos en cuatro grupos independientes, a cada uno de los cuales se les aplicaron uno de los siguientes tratamientos (ver Figura C):

- **Animales intactos tratados con solución salina** (CONTROL, n=10, 0.2 ml sc, durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento).
- **Animales intactos tratados con fluoxetina** (n=10, 5 mg/Kg/día de fluoxetina HCl, 1 h antes de cada prueba durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento).

- **Animales intactos tratados con nicotina** (0.4 mg/Kg/día de [sal (-)- Nicotina bi-(+)-tartrato]; 15 minutos antes de la prueba, n=10, durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento)
- **Animales intactos con la coadministración de fluoxetina y Nicotina** (n=10, durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento).

Por otro lado los animales tratados neonatalmente con solución salina y con clomipramina fueron asignados a uno de los siguientes cuatro grupos como se describe a continuación (ver Figura D):

- **Animales CLI tratados con solución salina** (CONTROL, n=10, 0.2 ml sc, durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento).
- **Animales CLI tratados con Fluoxetina** (n=10, 5 mg/Kg/día de fluoxetina HCl, 1 h antes de cada prueba y diario a la misma hora durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento).
- **Animales CLI tratados con Nicotina** (0.4 mg/Kg/día de [sal (-)- Nicotine bi-(+)-tartrato]; 15 minutos antes de la prueba, n=10, durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento)
- **Animales CLI con la coadministración de Fluoxetina y Nicotina** (n=10, durante 1, 7 ó 14 días y luego de 7 días del abandono del tratamiento crónico (14 días).

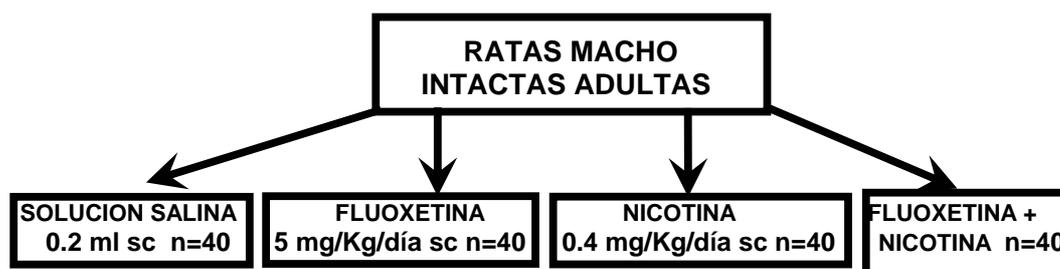
La dosis de nicotina fue elegida con base en estudios previos que muestran su efectividad en la prueba de nado forzado y en paradigmas conductuales crónicos, además de no afectar la actividad locomotora (Tizabi et al, 1999), y además de que esta dosis también produce niveles de nicotina cerebral similares a los observados por fumadores (Benwell, 1990). En adición, la mayoría de los estudios conductuales raramente utilizan dosis mayores que 0.5 mg/kg y las dosis que exceden de 1 mg/kg se considera que pueden tener efectos tóxicos. La nicotina fue disuelta en solución salina (0.9% NaCl). Por otra parte, la dosis de fluoxetina fue elegida con base en estudios previos que muestran su efectividad en la prueba de nado forzado y dentro de condiciones experimentales similares a las utilizadas en el presente trabajo, tanto en los tiempos de administración como en las dosis (Renéric y Lucki, 1998). La fluoxetina fue disuelta en agua destilada. En todos los casos las drogas fueron administradas subcutáneamente en un volumen equivalente a 2 ml/kg y preparadas cada mañana.

Prueba de Porsolt o de nado forzado

La prueba de Porsolt o de nado forzado consistió en introducir a la rata en un cilindro de vidrio (34 cm de altura x 16 cm de diámetro) con agua a 25°C de temperatura y

una altura de 15 cm, durante un tiempo de 15 minutos el primer día (pretest). Veinticuatro horas después se realizó la misma prueba, pero durante 5 minutos (test). Durante los primeros minutos después que la rata es introducida en el cilindro, presenta una actividad exploratoria vigorosa con la intención de escapar; después la rata permanece inmóvil flotando pasivamente en el agua en una posición característica (erguida sobre las patas traseras y la cola, recargando una o ambas extremidades anteriores en la pared del cilindro y manteniendo la cabeza levantada apenas arriba de la superficie del agua). El procedimiento usado originalmente por Porsolt (1977) fue modificado por Lucki et al. (1997; Detke y Lucki, 1995) para evaluar las conductas activas. Este último es el paradigma que utilizamos en el presente trabajo y consistió en colocar a las ratas en un cilindro vertical de vidrio de 20 cm de diámetro y 40 cm de altura conteniendo agua a 25°C con una profundidad de 30 cm, la profundidad, a diferencia del procedimiento original, no permite que el animal apoye sus patas en el fondo pero ocasionalmente puede apoyar la cola. Las dos sesiones de nado forzado fueron realizadas siempre entre las 12 y las 16 horas. Todos los tratamientos fueron administrados durante el periodo entre las dos sesiones.

MÉTODO



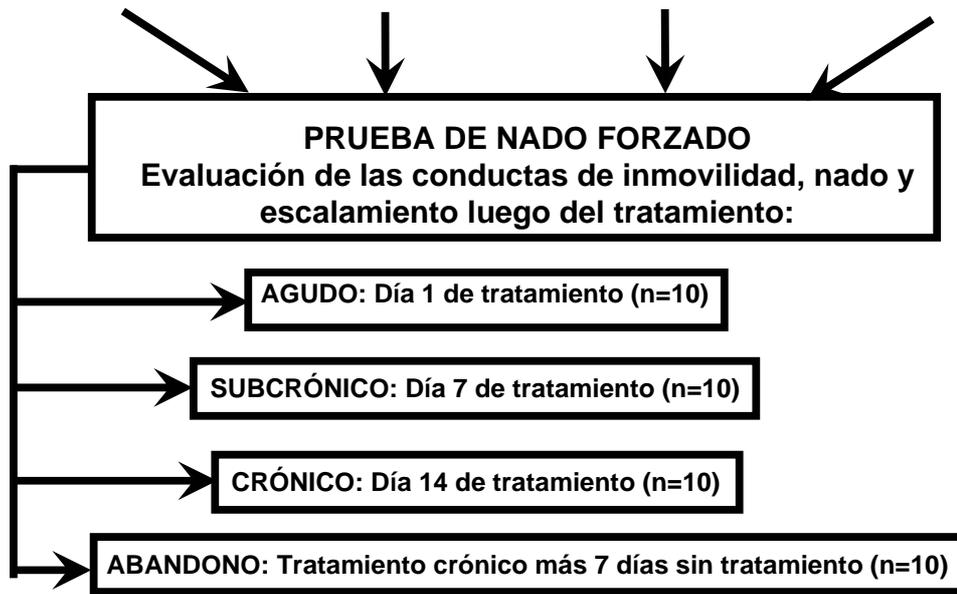
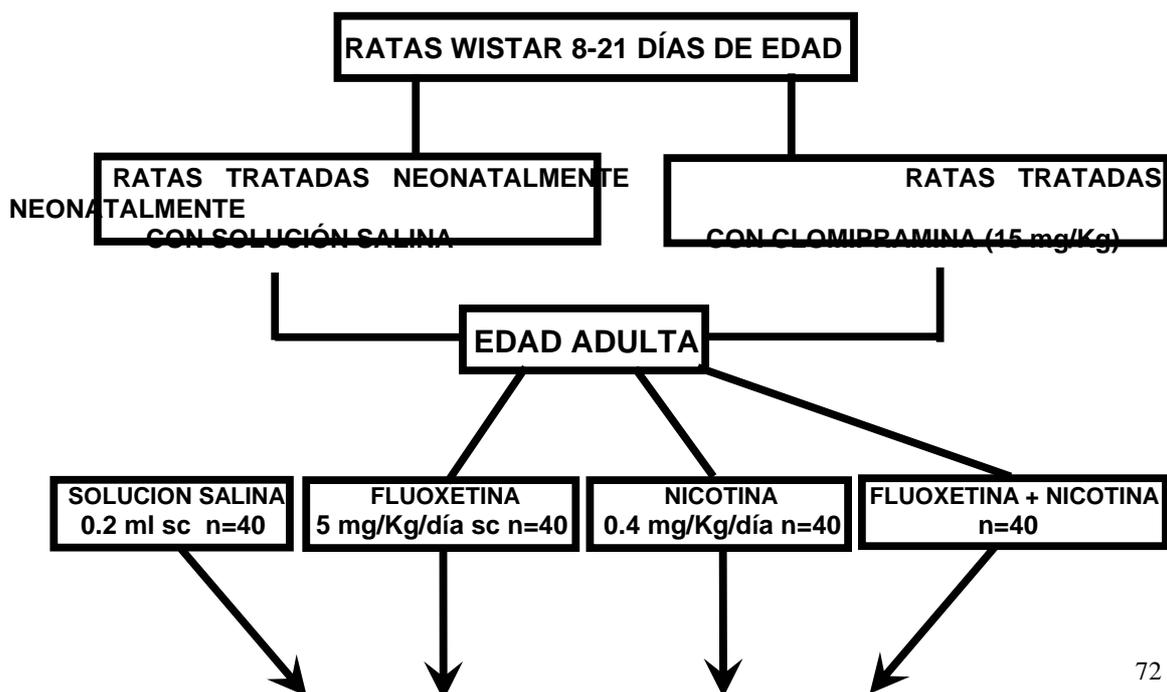


Figura C. Evaluación de la PNF en ratas intactas.



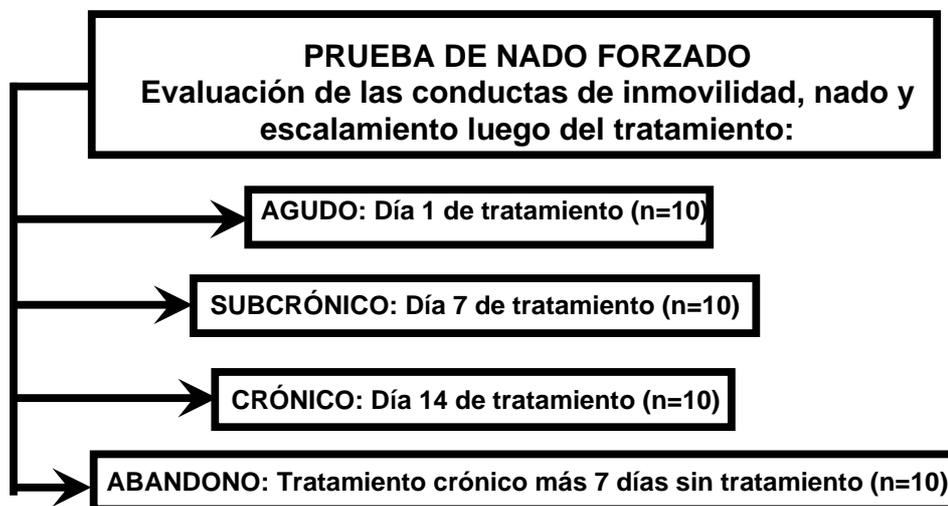


Figura D. Evaluación de la PNF en ratas tratadas neonatalmente con clomipramina.

Evaluación conductual.

Para calificar las tres conductas al mismo tiempo se empleó una técnica de muestreo durante una sola evaluación. Al final de cada periodo de 5 segundos durante la sesión de prueba (prueba de 5 minutos), el observador puede evaluar alguna de las tres conductas al mismo tiempo: la inmovilidad, ya definida, la conducta de nado y la conducta de escalamiento. El método de evaluación por muestreo proporciona un número total de 60 conductas o cuentas evaluadas durante los 5 minutos que dura la prueba. La conducta de nado fue definida como aquella actividad en que el animal se mueve más de lo necesario para mantener la cabeza sobre el agua, por ejemplo nadar alrededor del cilindro o cruzando de un lado a otro. La conducta de escalamiento cuando la rata ejecuta movimientos activos con sus patas posteriores dentro y fuera del agua, usualmente dirigidos contra las paredes y hacia la entrada del cilindro. Todas las pruebas fueron videograbadas para su posterior cuantificación. La evaluación de conductas activas (nado y escalamiento), además de la disminución de la conducta inmovilidad, permite determinar, de acuerdo al patrón de expresión, el posible mecanismo por el que diferentes antidepresivos producen su efecto. Así, fármacos que incrementan la actividad noradrenérgica, como los inhibidores selectivos de la recaptura de noradrenalina (disipramina, reboxetina y maprotilina), disminuyen la conducta de inmovilidad

incrementando selectivamente la conducta de escalamiento (Detke y Lucki, 1995). Por otra parte los fármacos que incrementan la actividad serotoninérgica, como los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (fluoxetina, sertralina y paroxetina), disminuyen la conducta de inmovilidad incrementando selectivamente la conducta de nado. La prueba de nado forzado, además, nos permite establecer el estado depresivo del animal correlacionándolo directamente con el tiempo de inmovilidad (Velázquez-Moctezuma y Díaz, 1992; Bonilla-Jaime et al, 1998). Para evitar la potencial influencia de la habituación por la exposición repetida a la prueba, se utilizaron grupos independientes de animales y sus controles respectivos para los estudios agudos o crónicos. A los datos obtenidos se les aplicó una ANOVA Kruskal-Wallis no paramétrica para determinar la posible significancia de los diferentes tratamientos, cuando se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) se aplicó una prueba post hoc (Newman-Keuls analoga) para determinar entre qué tratamientos existen diferencias significativas.

B) EFECTOS SOBRE EL PATRÓN DE SUEÑO

Implantación de electrodos para registro convencional de sueño

12 animales intactos y 12 animales tratados neonatalmente con clomipramina y 12 tratados neonatalmente con solución salina se anestesiaron con un cocktail de ketamina-xilacina-propipromazina (imalgen-rompum-combelen) por vía intraperitoneal. Posterior a la asepsia de la cabeza se realizó una incisión de 2 cm aproximadamente en dirección antero-posterior a través de la región antero-posterior a través de la región fronto-parietal, retirando los músculos, fascia epicraneal y el periostio. Se fijaron 5 tornillos de acero inoxidable en la región fronto-parietal del cráneo, con la siguiente distribución estereotáxica: dos bilaterales sobre las coordenadas del hipocampo (desde bregma posterior 4 mm, lateral ± 3.2 mm), dos más, anteriores a bregma (anterior 2 mm y lateral ± 2.5 mm) y uno más en la región interparietal. Se insertaron también alambres flexibles de acero inoxidable en los músculos dorsales del cuello para registro de EMG. Todos los electrodos se unieron a un conector de 9 entradas (5 cráneo, 4 músculo) que se fijó al cráneo con acrílico dental. Después de al menos una semana de recuperación post-quirúrgica, los animales fueron habituados a las condiciones de manejo, que consistieron en la manipulación del animal, la conexión al polígrafo y el registro al menos durante 1 hora cada día para la elección de canales y registros de prueba de varias horas.

Procedimiento de registro de sueño.

Posteriormente a la habituación se obtuvieron registros continuos de sueño de 8 h iniciando durante el periodo de luz (10:00 a.m.). Los animales intactos fueron registrados los días 1, 7 y 14 con el tratamiento respectivo y el día 21 luego de 7 días sin el tratamiento. Por otro lado, en la edad adulta, todos los animales tratados neonatalmente con CLI o solución salina fueron registrados también los días 1, 7 y 14 con el tratamiento respectivo y el día 21 luego de 7 días sin el tratamiento respectivo.

Los animales intactos fueron divididos en cinco grupos a cada uno de los cuales se les aplicó alguno de los siguientes tratamientos (Figura E):

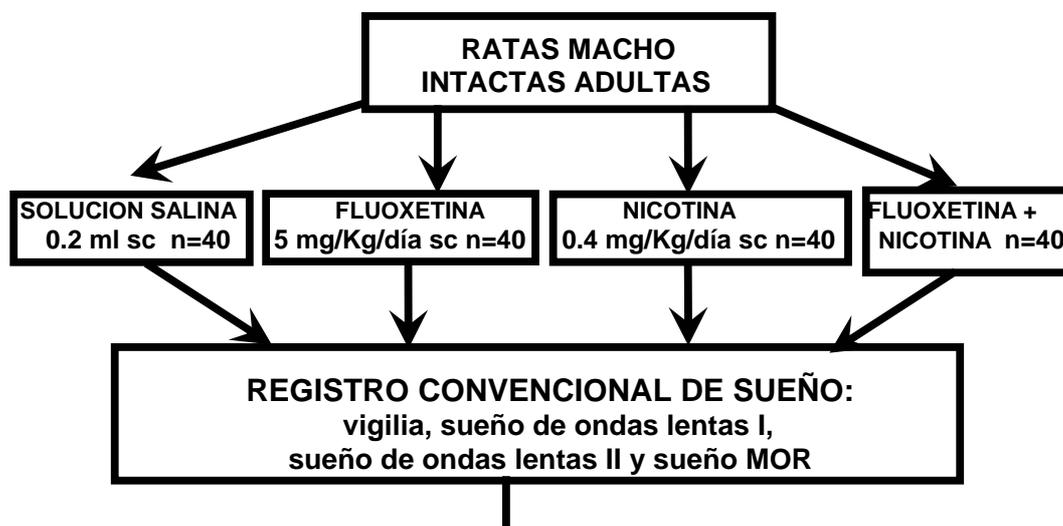
- **Animales intactos tratados con solución salina** (CONTROL, n=12, 0.5 ml sc)
- **Animales intactos tratados con fluoxetina** (n=12, 5 mg/Kg/día; 30 minutos antes de la prueba).
- **Animales intactos tratados con nicotina** (n=12, 0.5 mg/Kg/día; 15 minutos antes del registro).
- **Animales intactos con la coadministración de Fluoxetina y Nicotina** (n=12)

Por otro lado los animales tratados neonatalmente con solución salina y con clomipramina fueron asignados a alguno de los siguientes 5 grupos como se describe a continuación (Figura F):

- **Animales CLI tratados con solución salina** (CONTROL, n=10, 0.5 ml sc, durante 1, 7 y 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento).
- **Animales CLI tratados con Fluoxetina** (n=10, 5 mg/Kg/día, durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento).
- **Animales CLI tratados con Nicotina** (0.4 mg/Kg/día; 15 minutos antes de la prueba, n=10, durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento)
- **Animales CLI con la coadministración de Fluoxetina y Nicotina** (n=10, durante 1, 7 ó 14 días y durante 14 días más 7 sin tratamiento).

En los registros se cuantificó vigilia, sueño de ondas lentas I, sueño de ondas lentas II y sueño MOR. De los registros se obtuvieron los siguientes parámetros: tiempo total de sueño; eficiencia de sueño; número de episodios por etapa; tiempo total de cada etapa; porcentajes por estadio; latencias de cada etapa. A los datos obtenidos se les aplicó una ANOVA Kruskal-Wallis no paramétrica para determinar la posible significancia de los diferentes tratamientos, cuando se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

se aplicó una prueba post hoc (Newman-Keuls analoga) para determinar entre que tratamientos existen diferencias significativas. La prueba de χ^2 fue usada para la comparación de proporciones (porcentajes de las diferentes etapas de sueño).



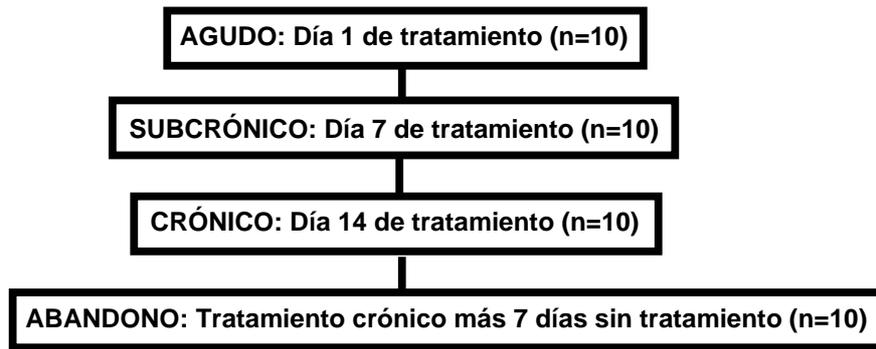
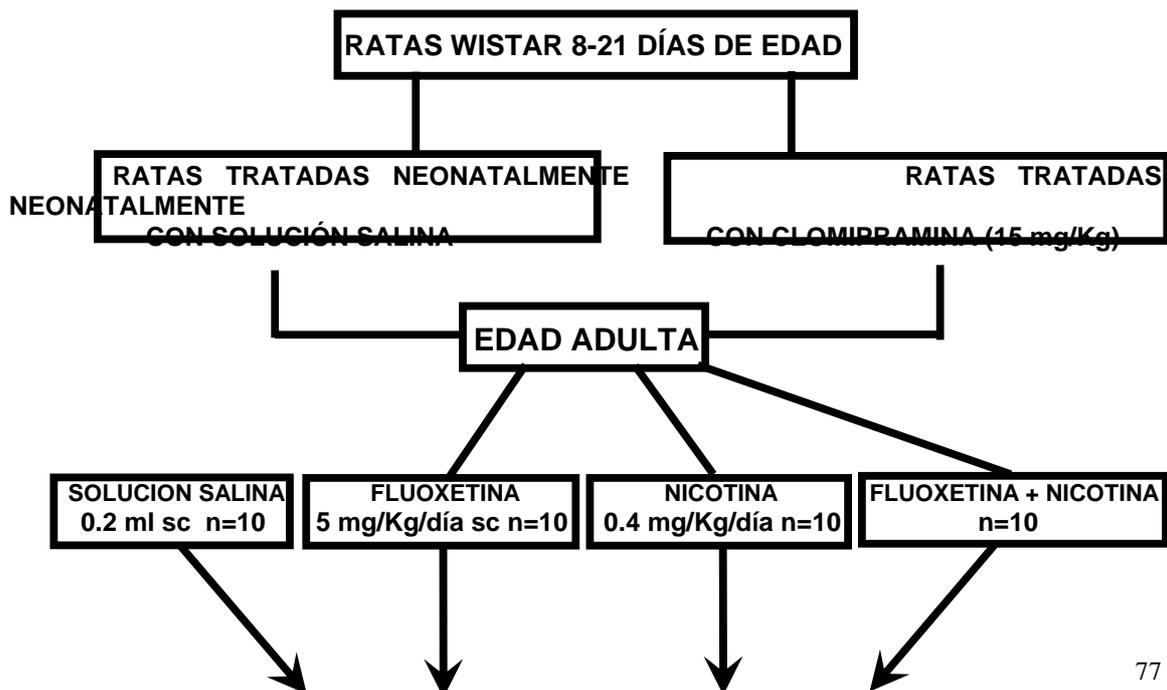


Figura E. Evaluación del patrón sueño-vigilia en ratas intactas



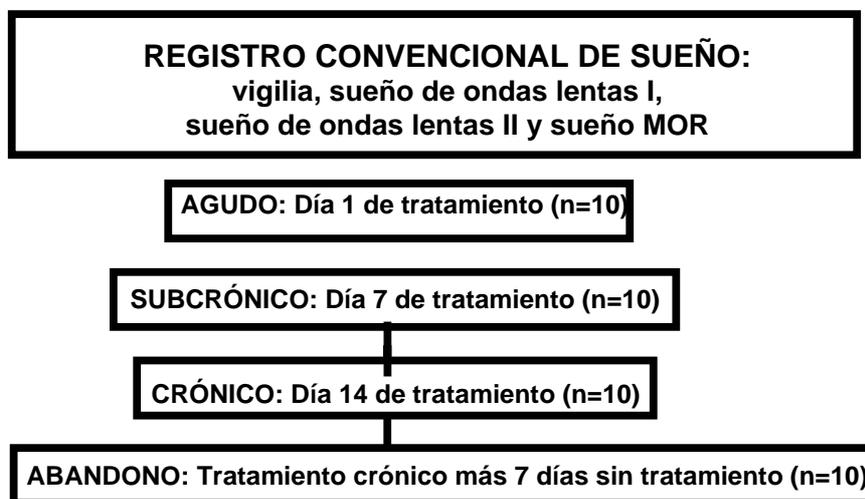


Figura F. Evaluación del patrón sueño-vigilia en ratas intactas

11 RESULTADOS

11.1 EFECTOS DE LA NICOTINA, FLUOXETINA Y LA COMBINACIÓN DE AMBOS SOBRE LA PRUEBA DE NADO FORZADO (PNF).

A) RATAS INTACTAS

La Figura 1 muestra el efecto de los diferentes tratamientos (FLX, NIC y F+N) en la PNF sobre ratas intactas luego de 1 (agudo), 7 (semicrónico) y 14 (crónico) días de tratamiento y 7 días después del abandono del tratamiento crónico (día 21).

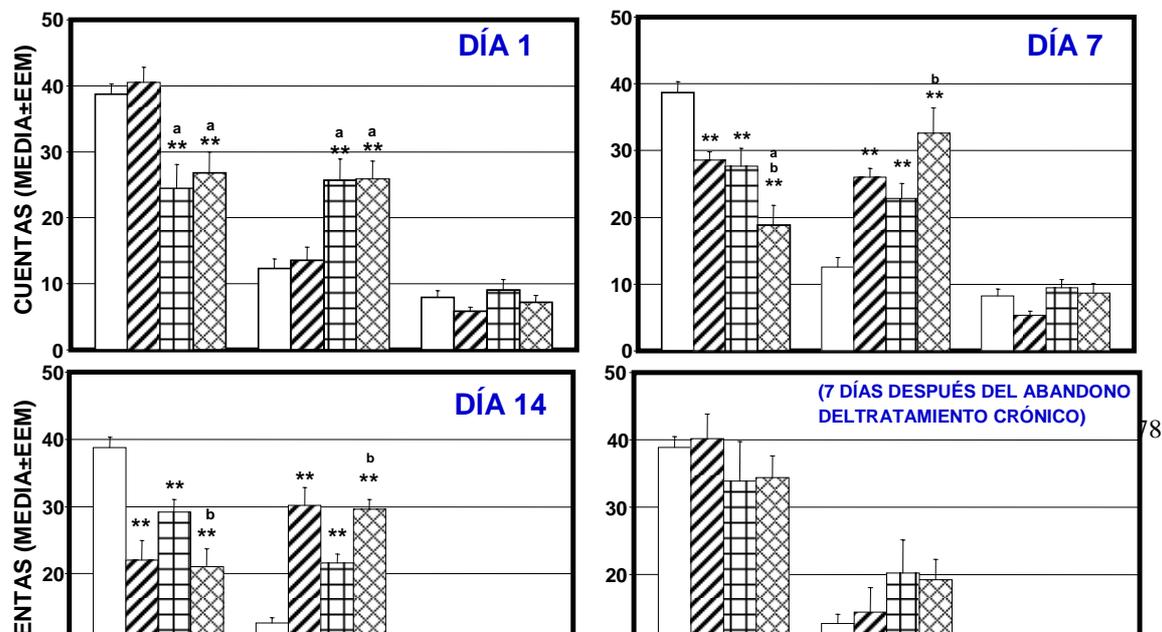


Figura 1. Efecto de la administración de los diferentes tratamientos sobre la prueba de nado forzado en ratas intactas luego de 1 (agudo), 7 (semicrónico) y 14 (crónico) días de tratamiento y 7 días después del abandono del tratamiento crónico (día 21). Fluoxetina (FLX), nicotina (NIC) y el tratamiento combinado (F+N) en relación a sus respectivos controles (CON). Los datos se expresan como la media del tiempo total en minutos por etapa±EEM. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ vs control (CON). *a* $p < 0.05$; *b* $p < 0.01$ vs FLX. ANOVA Kruskal Wallis seguida de prueba post hoc Newman-Keuls analoga.

Mientras que al día 1, la FLX no tiene efecto sobre ninguna de las conductas evaluadas, la NIC y el tratamiento combinado F+N disminuyen la conducta de inmovilidad (ANOVA $F = 19.76$, $df=3$ $p < 0.0002$), e incrementan la conducta de nado (ANOVA $F = 21.23$ $df=3$ $p < 0.0001$) sin afectar la conducta de escalamiento (ANOVA $F = 5.01$ $df=3$ $p < 0.17$). En los dos casos (NIC, F+N) estas diferencias son estadísticamente significativas si se comparan tanto con el grupo control como con el grupo tratado agudamente con FLX. La PNF en el día 7, muestra que la FLX establece su efecto disminuyendo la inmovilidad de manera similar que la NIC e incrementando la conducta de nado, mientras que este efecto individual se ve potenciado significativamente cuando se combinan ambos fármacos (F+N) (ANOVA para inmovilidad: $F = 26.81$ $df=3$ $p < 0.0001$; para nado: $F = 29.27$ $df=3$ $p < 0.0001$; para escalamiento: $F = 5.92$ $df=3$ $p < 0.12$). Después de 14 días de tratamiento, la FLX establece su mayor efecto al disminuir en cerca del 50% la conducta de inmovilidad e incrementando la conducta de nado, de manera similar al efecto de la combinación de ambos fármacos F+N, mientras que la NIC mantiene sus efectos en el mismo nivel de lo observado a los días 1 y 7 (ANOVA para inmovilidad: $F = 24.98$ $df=3$ $p < 0.0001$; para nado: $F = 29.52$ $df=3$ $p < 0.0001$; para escalamiento: $F = 1.51$ $df=3$ $p < 0.68$). Después de una semana de abandono del tratamiento respectivo no se observan cambios residuales significativos para ninguno de los tres tratamientos (ANOVA para inmovilidad: $F = 4.42$ $df=3$ $p < 0.22$; para nado: $F = 5.1$ $df=3$ $p < 0.16$; para escalamiento: $F = 4.82$ $df=3$ $p < 0.19$).

B) RATAS CLI

La Figura 2 muestra los efectos de la administración neonatal de clomipramina y de solución salina en la PNF en relación con las ratas intactas. Así, se observa que las ratas tratadas neonatalmente con clomipramina muestran *per se* mayor inmovilidad (28.4%; ANOVA F =23.17 df=2 p<0.0001) y menor conducta de nado (-59.32%; ANOVA F =19.36 df=2 p<0.0001) sin alteraciones significativas sobre la conducta de escalamiento (ANOVA F =4.7 df=2 p<0.095), cuando se compara con su control tratado neonatalmente con solución salina y con el control de ratas intactas. La gráfica muestra que el tratamiento neonatal con solución salina no tiene ningún efecto sobre la PNF ya que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en ninguna de las tres conductas.

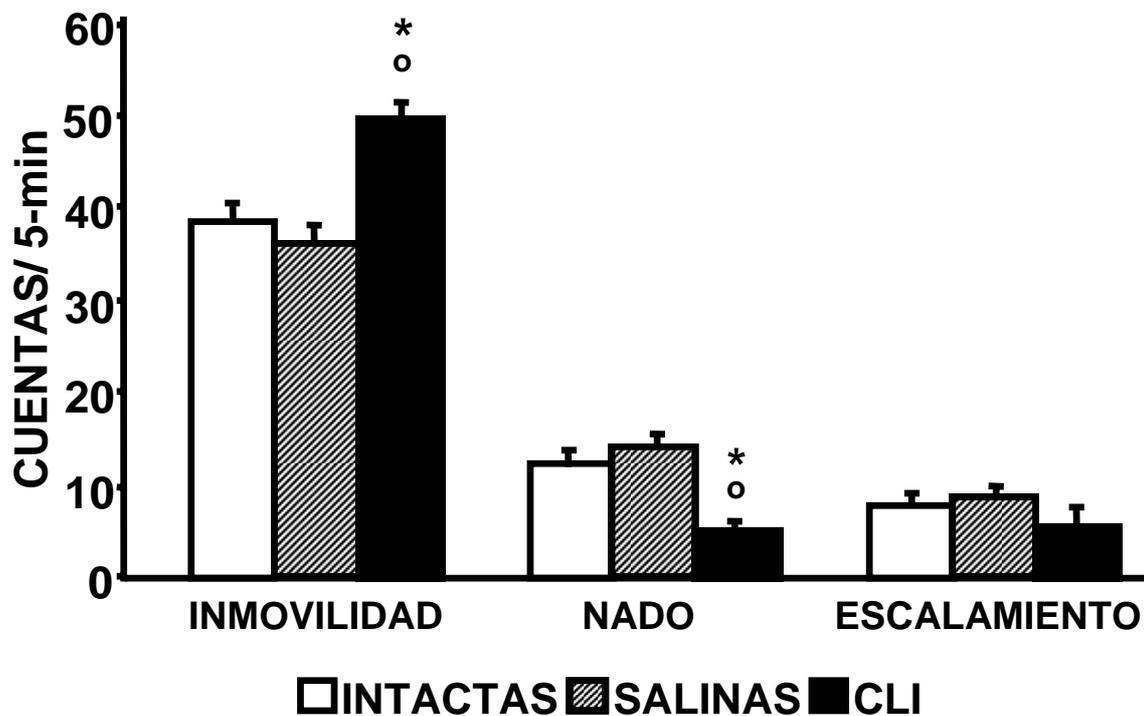


Figura 2. Efectos de la administración neonatal de clomipramina (CLI) y de solución salina (SALINAS) en la prueba de nado forzado en relación con ratas intactas (INTACTAS). Los datos se expresan como la media del número de cuentas \pm EEM. * $p < 0.05$ vs intactas; \circ $p < 0.05$ vs salinas. ANOVA Kruskal Wallis seguida de Newman-Keuls análoga. Notese la mayor inmovilidad y la reducida conducta de nado en las ratas CLI.

La Figura 3 muestra los efectos de la administración de los diferentes tratamientos (FLX, NIC y F+N) en la PNF sobre el modelo animal de depresión inducido por el tratamiento neonatal con clomipramina (CLI), luego del día 1 (tratamiento agudo). Mientras que la FLX no altera ninguna conducta en la PNF al día 1 de tratamiento, de manera similar a lo observado en las ratas intactas, la NIC y el tratamiento combinado F+N disminuyen la conducta de inmovilidad (ANOVA $F = 11.9$ $df=3$ $p < 0.008$) e incrementan la conducta de nado (ANOVA $F = 10.44$ $df=3$ $p < 0.015$), aunque no con la misma intensidad que en las ratas intactas, sin alterar el escalamiento (ANOVA $F = 1.38$ $df=3$ $p < 0.71$). Por lo que respecta al día 7 (tratamiento subcrónico) (Figura 4), los tres tratamientos reducen la inmovilidad (ANOVA $F = 21.74$ $df=3$ $p < 0.0001$) e incrementan el nado (ANOVA $F = 21.65$ $df=3$ $p < 0.0001$) a niveles similares a los observados en las ratas intactas control, sin embargo, no se observa el efecto potenciador de la coadministración F+N encontrado en las ratas intactas. Además de no alterar el escalamiento (ANOVA $F = 6.88$ $df=3$ $p < 0.076$). Después de 14 días de tratamiento (Figura 5), los tres tratamientos disminuyen la inmovilidad (ANOVA $F = 16.44$ $df=3$ $p < 0.0009$) e incrementan la conducta de nado (ANOVA $F = 17.88$ $df=3$ $p < 0.0005$) sin alteración en el escalamiento (ANOVA $F = 2.48$ $df=3$ $p < 0.48$). Sin embargo, este efecto en las ratas CLI, ya no alcanza los niveles que pueden observarse en sus controles salinos e inclusive, la inmovilidad no disminuye ni la conducta de nado se incrementa más allá de lo observado al día 7. Por lo que respecta al abandono del tratamiento crónico, ninguno de los tres tratamientos muestra efectos residuales sobre las conductas evaluadas por la PNF (ANOVA para inmovilidad: $F = 4.92$ $df=3$ $p < 0.32$; para nado: $F = 5.1$ $df=3$ $p < 0.16$; para escalamiento: $F = 7.42$ $df=3$ $p < 0.08$). Después de una semana de abandono del tratamiento respectivo no se observan cambios residuales significativos para ninguno de los tres tratamientos (ANOVA para inmovilidad: $F = 4.42$ $df=3$ $p < 0.22$; para nado: $F = 5.1$ $df=3$ $p < 0.16$; para escalamiento: $F = 4.82$ $df=3$ $p < 0.19$).

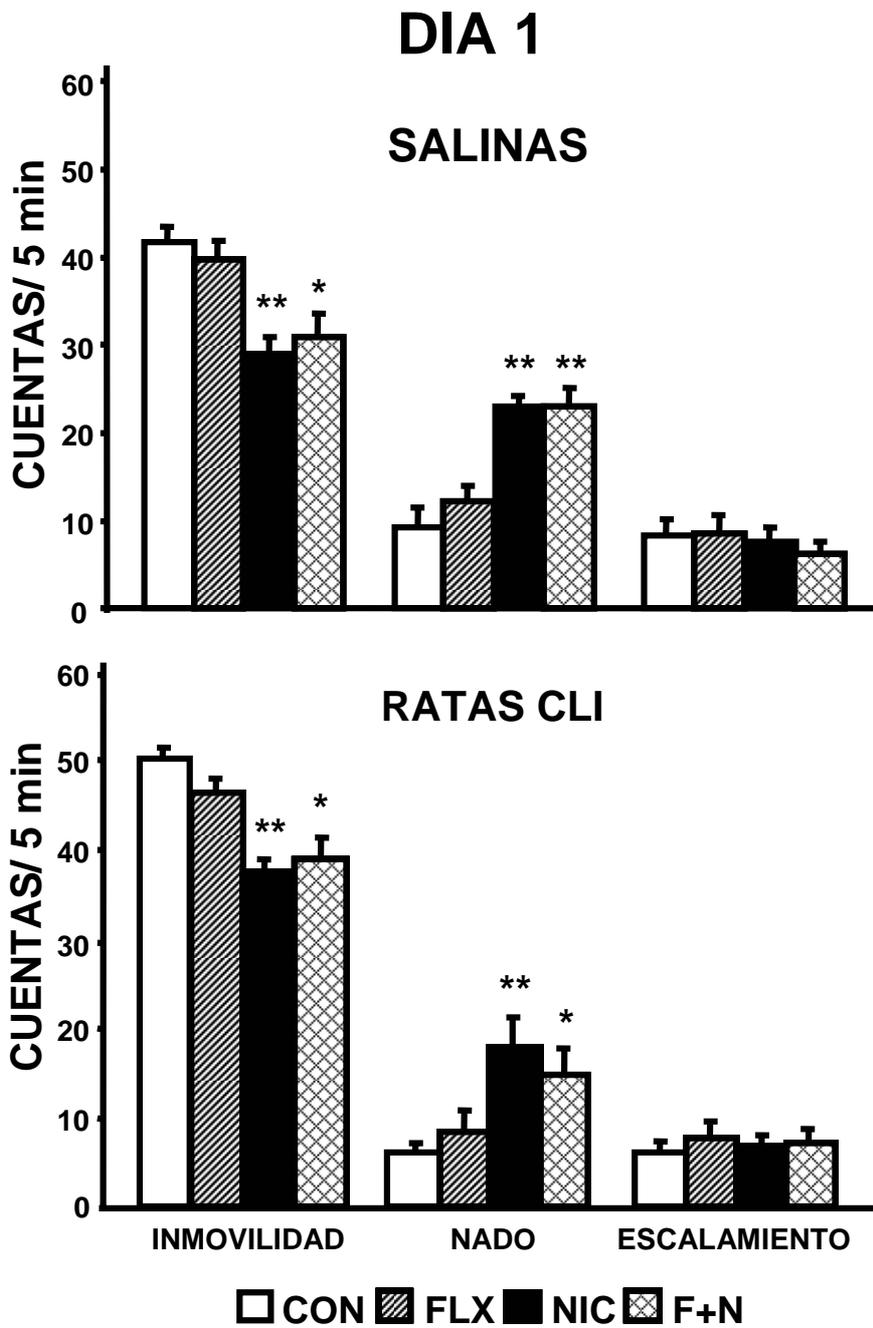


Figura 3. Efectos de la administración de los diferentes tratamientos: fluoxetina (FLX), nicotina (NIC) y el tratamiento combinado (F+N) en la prueba de nado forzado sobre las ratas tratadas neonatalmente con solución salina (SALINAS) (panel superior) y el modelo animal de depresión inducido por el tratamiento neonatal con clomipramina (RATAS CLI) (panel inferior) luego del tratamiento agudo (día 1) en relación a sus respectivos controles (CON). Media del número de cuentas±EEM. * $p < 0.05$ vs intactas; ** $p < 0.01$ vs control. ANOVA Kruskal Wallis seguida de Newman-Keuls análoga.

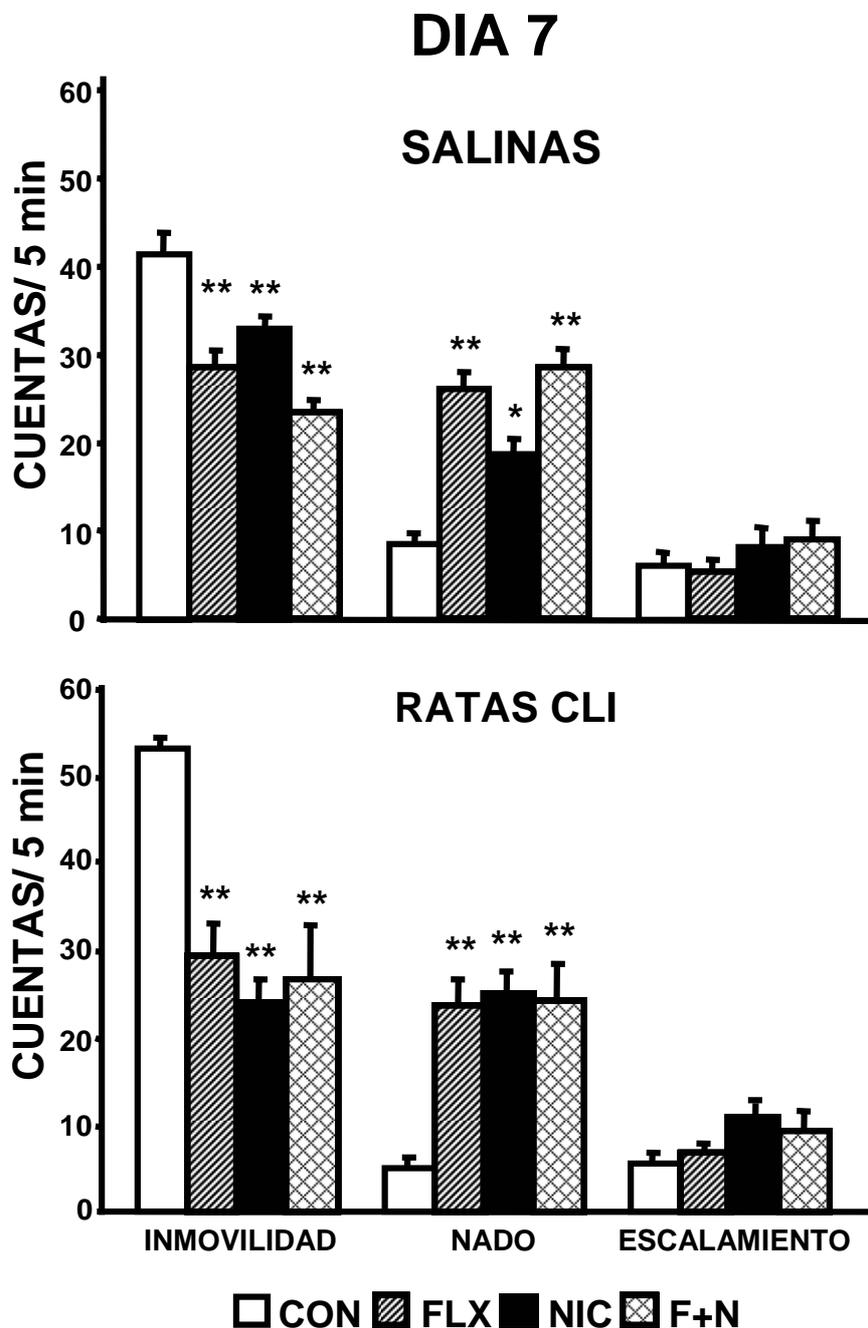


Figura 4. Efectos de la administración de los diferentes tratamientos: fluoxetina (FLX), nicotina (NIC) y el tratamiento combinado (F+N) en la prueba de nado forzado sobre las ratas tratadas neonatalmente con solución salina (SALINAS) (panel superior) y el modelo animal de depresión inducido por el tratamiento neonatal con clomipramina (RATAS CLI) (panel inferior) luego del tratamiento subcrónico (día 7) en relación a sus respectivos controles (CON). Media del número de cuentas \pm EEM. * $p < 0.05$ vs intactas; ** $p < 0.01$ vs control. ANOVA Kruskal Wallis seguida de Newman-Keuls análoga.

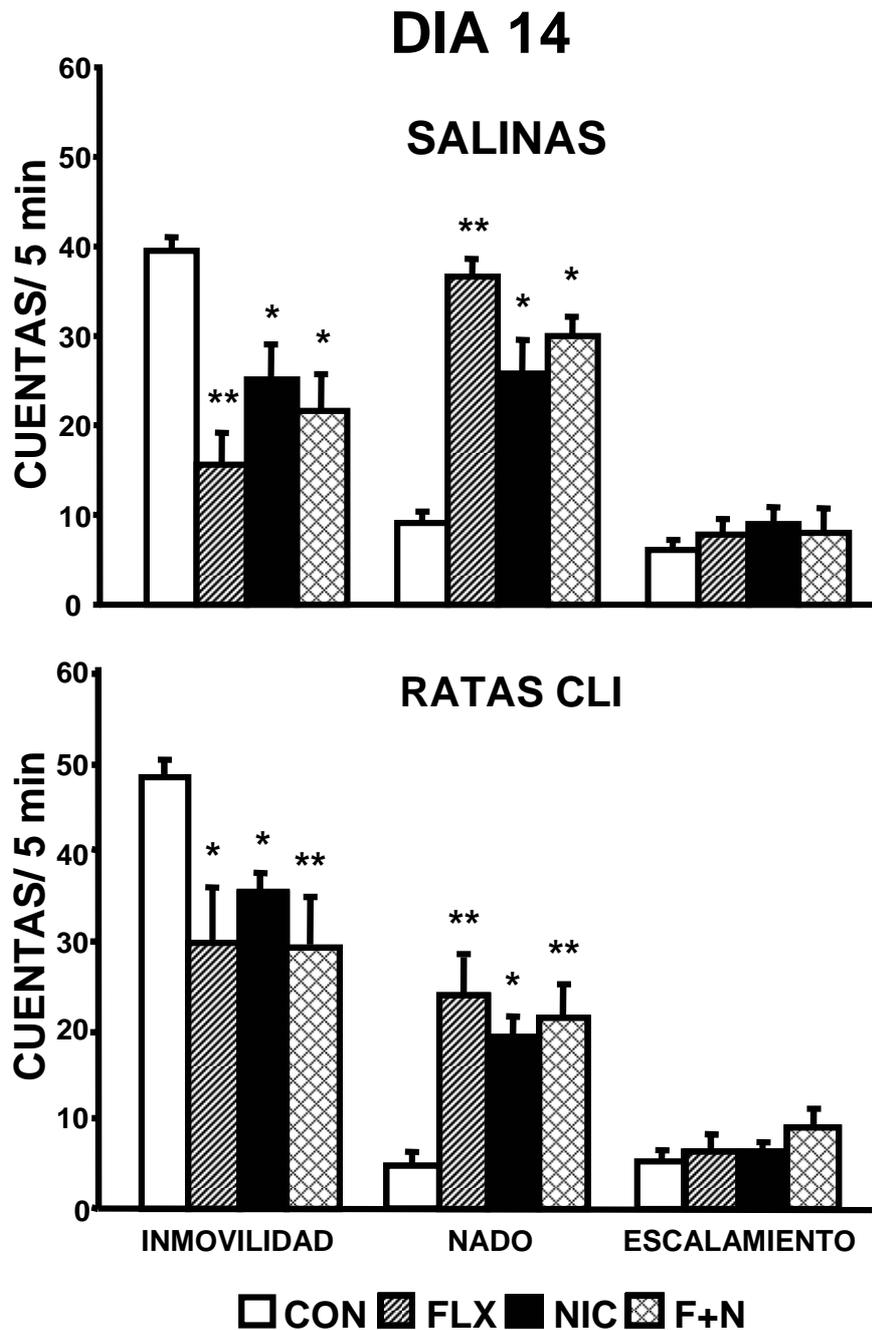


Figura 5. Efectos de la administración de los diferentes tratamientos: fluoxetina (FLX), nicotina (NIC) y el tratamiento combinado (F+N) en la prueba de nado forzado sobre las ratas tratadas neonatalmente con solución salina (SALINAS) (panel superior) y el modelo animal de depresión inducido por el tratamiento neonatal con clomipramina (RATAS CLI) (panel inferior) luego del tratamiento crónico (día 14) en relación a sus respectivos controles (CON). Media del número de cuentas \pm EEM. * $p < 0.05$ vs intactas; ** $p < 0.01$ vs control. ANOVA Kruskal Wallis seguida de Newman-Keuls análoga.

11.2 EFECTOS DE LA NICOTINA, FLUOXETINA Y LA COMBINACIÓN DE AMBOS SOBRE EL PATRÓN DE SUEÑO-VIGILIA

A) RATAS INTACTAS

La figura 6 muestra el efecto de los diferentes tratamientos sobre el patrón de sueño-vigilia en ratas intactas luego de 1 (agudo), 7 (semicrónico) y 14 (crónico) días de tratamiento y 7 días después del abandono del tratamiento crónico (día 21). Los tres tratamientos (NIC, FLX y F+N) inducen un incremento significativo de la vigilia a costa de un decremento del SOL II y del sueño MOR desde el primer día de tratamiento, sin afectar al SOL I en los cuatro días de evaluación. Para una mejor explicación de los datos se anexan los porcentajes de cambio en relación al grupo control cuando existen diferencias significativas, y en el caso de alteraciones en las latencias de sueño, anexamos además las diferencias en minutos. El tratamiento agudo (día 1) con FLX incrementa la vigilia en un 56.69% ($p < 0.01$) debido al incremento significativo en la duración de sus episodios (Tabla 1). En consecuencia, este incremento disminuye el tiempo total de sueño (-25.2%; $p < 0.05$) y a su vez, la eficiencia de sueño (-18%; $p < 0.05$). La disminución del tiempo total de sueño es dada como consecuencia de una disminución del sueño de ondas lentas II (-33.83%; $p < 0.05$), producido por una disminución significativa de su frecuencia de aparición ($p < 0.01$) aún cuando se incrementa la duración de sus episodios ($p < 0.05$) (Tabla 1). Por otro lado, el sueño de ondas lentas I disminuye su frecuencia ($p < 0.05$) mientras que aumenta la duración promedio por episodio ($p < 0.01$), sin embargo esto no alcanza a reflejarse en el tiempo total (Tabla 1). El tratamiento agudo con FLX reduce de manera significativa el sueño MOR (-61.47%; $p < 0.05$) como consecuencia de una reducción en su frecuencia (-63%; $p < 0.05$) (Tabla 1). Por otra parte, la administración aguda de NIC tiene efectos similares a la FLX pero en mayor grado. Así, la NIC incrementa la vigilia en un 78% ($p < 0.01$) debido al incremento significativo en la duración de sus episodios ($p < 0.05$) (Tabla 1). En consecuencia, este incremento disminuye el tiempo total de sueño (-37.63%; $p < 0.01$) y a su vez, la eficiencia de sueño (-26%; $p < 0.01$). La reducción del tiempo total de sueño es dada como consecuencia de una disminución del sueño de ondas lentas II (-50%; $p < 0.01$), producido por una caída significativa en su frecuencia de aparición ($p < 0.01$) (Tabla 1). Por otro lado, el sueño de ondas lentas I sufre una caída en su frecuencia ($p < 0.05$) mientras que aumenta la duración promedio por episodio ($p < 0.01$), sin embargo esto no alcanza a reflejarse en el tiempo total (Tabla 1). El tratamiento agudo con NIC reduce de manera significativa el sueño MOR (-63.15%; $p < 0.01$) como consecuencia de importante reducción en su frecuencia de aparición (-69.84%; $p < 0.01$) (Tabla 1). Con respecto al cotratamiento agudo

F+N, su administración aumenta también el tiempo total de vigilia hasta un 56% ($p<0.01$), debido al incremento que no alcanza significancia estadística en la duración y frecuencia de sus episodios (Tabla 1). Como resultado de este incremento hay una disminución del tiempo total de sueño (-26.45%; $p<0.05$) y a su vez de la eficiencia de sueño (-18.62%; $p<0.05$). La disminución del tiempo total de sueño es dada como consecuencia de una significativa disminución del sueño de ondas lentas II (-30.74%; $p<0.05$), producido por una caída significativa en su frecuencia de aparición ($p<0.01$) aún cuando aumenta la duración de sus episodios ($p<0.05$) (Tabla 1). Por otro lado, el sueño de ondas lentas I, de modo similar que con la administración individual de cada fármaco, sufre una disminución en su frecuencia ($p<0.05$) mientras que aumenta la duración promedio por episodio ($p<0.05$), sin embargo estos efectos no alcanzan a reflejarse en el tiempo total (Tabla 1). El cotratamiento agudo con F+N reduce de manera significativa el sueño MOR (-74.58%; $p<0.01$) como consecuencia de una reducción en su frecuencia (-77.15%; $p<0.01$) (Tabla 1). Además, y a diferencia de los efectos individuales de cada fármaco, la latencia de sueño MOR se ve incrementada en cerca de 85 minutos con respecto al control (85.3%; $p<0.05$).

Esta respuesta general del ciclo sueño-vigilia ante los tres tratamientos se mantiene luego de 7 días, sin embargo, el incremento en la cantidad de vigilia inducido por el tratamiento con NIC y FLX es debido a un aumento en la frecuencia de la vigilia pero no de su duración promedio, mientras que en el caso de la coadministración de F+N existe un incremento en la frecuencia pero no en la duración promedio de la vigilia (Tabla 2). En detalle, la administración subcrónica de FLX incrementa la vigilia a un nivel similar a lo observado al día 1 (56.32%) ($p<0.05$), pero a diferencia del día 1, este efecto es producido por un aumento en su frecuencia de aparición ($p<0.05$) y no a su duración promedio. Como consecuencia de este efecto, de manera similar al día 1, disminuye el tiempo total de sueño (-26.64%; $p<0.05$) y a su vez, la eficiencia de sueño (-18.73%; $p<0.05$). De manera similar al tratamiento agudo, la disminución del tiempo total de sueño es dada como consecuencia de una reducción del sueño de ondas lentas II (-30.33%; $p<0.05$), producido por una caída significativa de su frecuencia de aparición ($p<0.01$) aún cuando se incrementa la duración de sus episodios ($p<0.05$) (Tabla 2). Por otro lado, el sueño de ondas lentas I aumenta la duración promedio por episodio ($p<0.05$) sin alteración en su frecuencia, esto no alcanza a reflejarse tampoco en el tiempo total (Tabla 2). El tratamiento subcrónico con FLX reduce drásticamente el sueño MOR (-85.39%;

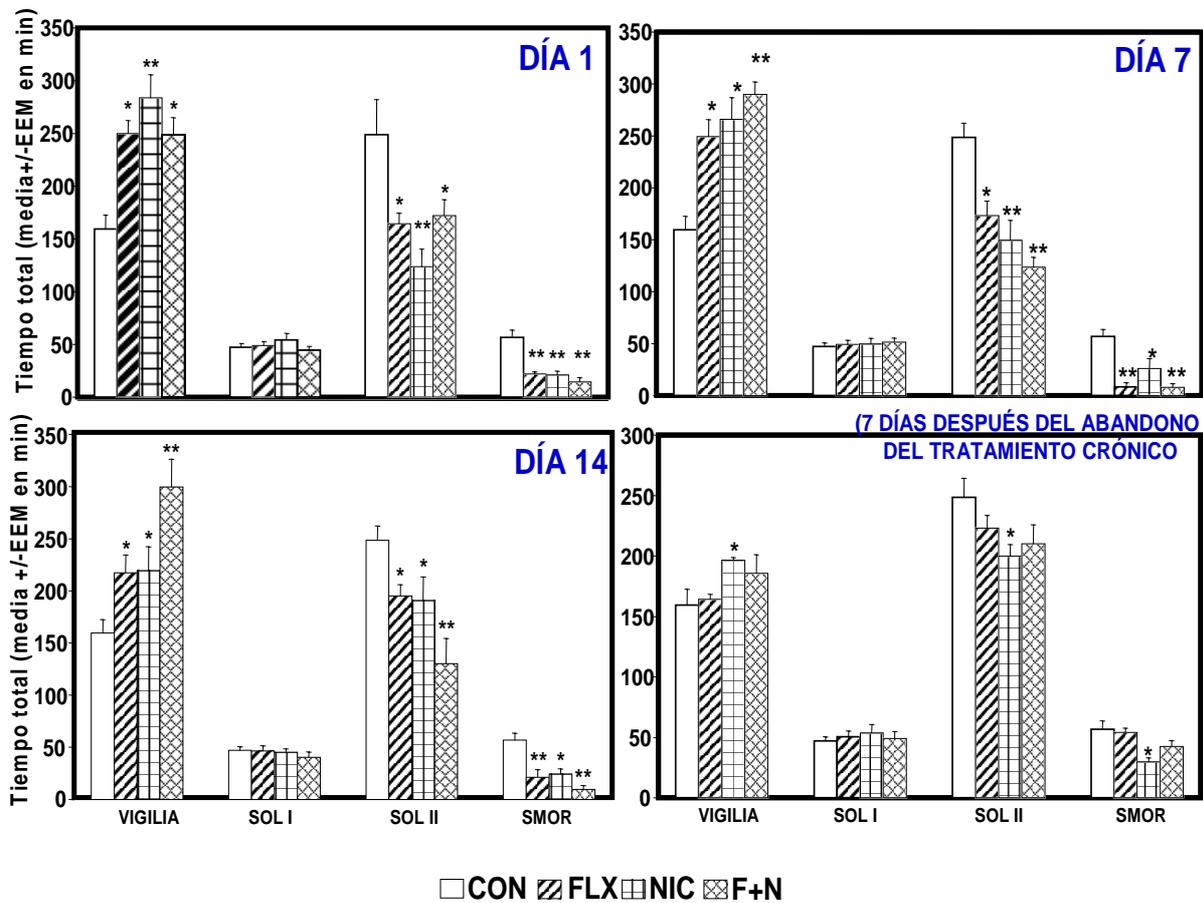


Figura 6. Efecto de la administración de los diferentes tratamientos sobre la vigilia, el sueño de ondas lentas I y II (SOL I y SOL II) y sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) en ratas intactas luego de 1 (agudo), 7 (semicrónico) y 14 (crónico) días de tratamiento y 7 días después del abandono del tratamiento crónico (día 21). Fluoxetina (FLX), nicotina (NIC) y el tratamiento combinado (F+N) en relación a sus respectivos controles (CON). Los datos se expresan como la media del tiempo total en minutos por etapa \pm EEM. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ vs control. ANOVA Kruskal Wallis seguida de prueba post hoc Newman-Keuls análoga.

$p < 0.01$), en comparación con el tratamiento agudo, como consecuencia de una reducción en su frecuencia (-85.91%; $p < 0.05$) (Tabla 2). Por otra parte, la administración de NIC luego de 7 días incrementa aún más la vigilia (66.76%; $p < 0.01$) con respecto al día 1, disminuyendo el tiempo total de sueño (-34.31%; $p < 0.01$) a niveles cercanos a los del día 1, resultando en una reducción en la eficiencia de sueño (-22.19%; $p < 0.05$). Del mismo modo que con el tratamiento agudo, la caída en la eficiencia de sueño es consecuencia de una disminución del sueño de ondas lentas (-40%; $p < 0.05$) como resultado de una reducción en su frecuencia de aparición ($p < 0.05$) (Tabla 2). En el caso del sueño MOR, este se mantiene reducido (-54.21%; $p < 0.05$) a niveles del primer día. Esta disminución

inducida por la NIC es producto de un decremento en la frecuencia de aparición (69.37%; $p < 0.05$) (Tabla 2). Por lo que respecta a la coadministración subcrónica de F+N, este tratamiento incrementa la vigilia (81.81%; $p < 0.01$) aún más que los niveles observados después de la administración aguda, debido principalmente a un aumento en su duración promedio ($p < 0.05$). En consecuencia el tiempo total de sueño disminuye (-40%; $p < 0.05$) y aún más la eficiencia de sueño (27.2%; $p < 0.05$). La caída observada en el tiempo total de sueño es producto de una disminución en el sueño de ondas lentas II (-50.34%; $p < 0.05$), aún más que con el tratamiento agudo, como consecuencia de una reducida frecuencia de aparición ($p < 0.05$) aún cuando su duración promedio aumenta ligera pero significativamente ($p < 0.05$). De manera similar que con la administración subcrónica de fluoxetina, la administración combinada F+N disminuye drásticamente el tiempo de sueño MOR (-86.13%; $p < 0.01$) con respecto al control y con respecto al tratamiento agudo. Esta disminución es producto de un decremento sustancial y casi una supresión de la frecuencia de aparición (-89.22%; $p < 0.01$) a niveles similares a los observados con FLX. Este tratamiento es el único que altera significativamente las latencias de sueño, prolongando cada una de ellas ($p < 0.05$), siendo notable para la latencia de sueño lento I (51.34 min; 127.74%; $p < 0.05$) y de sueño MOR (142.36 min; 135.69%; $p < 0.05$), mientras que la latencia de sueño lento II aumenta en menor grado (25.71 min; 44.57%; $p < 0.05$) sin dejar de ser significativo ($p < 0.05$).

Al día 14 (Tabla 3), la vigilia sigue incrementada (36.3%; $p < 0.05$) por aumento en su frecuencia ($p < 0.05$) pero menor que con el tratamiento para el día 1 y 7, en el caso de la FLX, produciendo una disminución en el tiempo total de sueño (-16.44%; $p < 0.05$) pero en menor medida que los días 1 y 7. Esta reducción en el sueño total también tiene un impacto menor sobre la eficiencia de sueño (-12%; $p < 0.05$) y es consecuencia de un decremento en el sueño de ondas lentas II (-21.44%; $p < 0.05$) resultado de una caída en su frecuencia ($p < 0.05$) a pesar de un aumento en su duración promedio ($p < 0.05$) (Tabla 3). Para el caso de la NIC, esta también tiene menor efecto sobre la vigilia, aún cuando sigue incrementada (-37.58%; $p < 0.05$) debido a un aumento en su duración promedio ($p < 0.05$). Este efecto disminuye el sueño de ondas lentas II (-23.21%) por caída de su frecuencia ($p < 0.05$), así como por una reducción en el tiempo de sueño MOR (-57%; $p < 0.05$) como consecuencia de baja frecuencia de aparición ($p < 0.05$). La latencia de esta etapa también se prolonga (86.21 min; 82.17%; $p < 0.05$).

TABLA 1. CARACTERISTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA DESPUÉS DEL PRIMER DÍA DE TRATAMIENTO EXPERIMENTAL (MEDIA±EEM)

	CONTROL n=10	FLUOXETINA n=10	NICOTINA n=10	FLUOXETINA+NICOTINA n=10
VIGILIA				
Tiempo total (min)	159.43±13.17	249.81±12.53**	283.81±21.87**	248.76±16.12**
Duración (min)	10.70±0.85	15.86±1.32*	16.08±1.53*	13.63±0.88
Frecuencia	15.2±1.06	15.87±1.00	18.00±0.82	18.37±0.92
SUEÑO				
Tiempo total (min)	314.55±10.75	235.27±12.77*	196.20±21.78**	231.33±16.06*
Eficiencia de sueño (%)	66.80±2.74	49.01±2.65 *	40.86±4.54**	48.18±3.35*
SUEÑO DE ONDAS LENTAS I				

TABLA 2. CARACTERISTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA DESPUÉS DE 7 DÍAS DE TRATAMIENTO EXPERIMENTAL (MEDIA±EEM)

	CONTROL n=10	FLUOXETINA n=10	NICOTINA n=10	FLUOXETINA+NICOTINA n=10
VIGILIA				
Tiempo total (min)	159.43±13.17	249.22±16.56*	265.87±20.93**	289.87±12.15**
Duración (min)	10.70±0.85	14.31±1.48	16.27±1.58	17.49±1.41*
Frecuencia	15.2±1.06	18.00±1.10 *	17.12±1.53 *	17.0±0.94
SUEÑO				
Tiempo total (min)	314.55±10.75	230.76±16.56*	206.62±26.27**	190.12±12.15**
Eficiencia de sueño (%)	66.80±2.74	48.07±3.45*	44.61±4.36*	39.60±2.53*
SUEÑO DE ONDAS LENTAS I				
Tiempo total (min)	47.18±3.40	49.18±3.99	49.71±5.29	51.28±3.91
Duración (min)	2.07±0.10	3.05±0.08 *	2.60±0.25*	2.77±0.11 *
Frecuencia	22.7±1.38	16.12±1.24	19.00±1.06	18.37±1.08
Latencia (min)	40.28±6.30	38.05±2.37	32.21±3.38	91.62±13.95*
SUEÑO DE ONDAS LENTAS II				
Tiempo total (min)	248.59±33.63	173.18±14.15*	149.48±19.02*	123.45±9.66**
Duración (min)	6.88±0.42	12.53±1.36*	8.79±1.05	8.66±0.47*
Frecuencia	32.1±1.74	14.37±1.33**	17.25±1.52*	15.37±0.99*
Latencia (min)	57.68±9.07	63.89±12.65	91.97±17.51	83.39±10.09*
SUEÑO MOR				
Tiempo total time (min)	56.76±6.80	8.29±3.85* *	25.99±9.37*	7.87±3.49**
Duración (min)	2.21±0.14	2.27±0.24	1.88±0.16	2.41±0.34
Frecuencia	25.7±2.65	3.62±1.57 *	7.87±1.81*	2.77±1.03**
Latencia (min)	104.91±11.46	172.08±49.14	181.56±30.27	247.27±51.69 *

Por otro lado, la coadministración de los dos fármacos, F+N, incrementa la vigilia (88%; $p<0.01$) a niveles un poco mayores que los observados el día 7. Este efecto disminuye tanto el tiempo total (-42.69%; $p<0.05$) como la eficiencia de sueño (-29.26%; $p<0.05$). Esto como resultado de una disminución del sueño de ondas lentas II (-23.21%; $p<0.01$) y a su vez de una caída importante de su frecuencia de aparición ($p<0.01$). De manera similar al día 7, también se observa una importante reducción en el tiempo de sueño MOR (-82.8%; $p<0.01$) como producto de una drástica disminución e su frecuencia de aparición (-86.88%; $p<0.01$). Al igual que con el tratamiento subcrónico, la administración de F+N prolonga las latencias de sueño, 47% (19 min; $p<0.05$) para el sueño lento I, 62.2% (35.88 min; $p<0.05$) para el sueño lento II y 153.12% (160.64 min; $p<0.01$) para el sueño MOR (Tabla 3).

Por otra parte, luego de 7 días de abandono del tratamiento crónico con FLX los incrementos en la vigilia regresan a los niveles del control, no existiendo diferencia significativa en ninguno de los parámetros evaluados (Tabla 4), mientras que el tratamiento con NIC muestra efectos residuales al mantenerse elevado el tiempo de permanencia en vigilia (23.21%; $p<0.05$) producto de un incremento en su frecuencia y a costa de una disminución del tiempo en SOL II (-19.5%; $p<0.05$) y SMOR (-47.35%; $p<0.05$). Estos efectos sobre el sueño se ven reflejados en una ligera disminución tanto del tiempo total (-8.7%; $p<0.05$) como de la eficiencia de sueño (-7.7%) (Tabla 4). La administración de NIC reduce el SOL II (-19.6%; $p<0.05$) al acortar su frecuencia ($p<0.05$) y duración promedio ($p<0.05$)(Tabla 2). El tiempo de sueño MOR también se encuentra notablemente disminuido (47.35%; $p<0.05$) debido a una caída en su frecuencia de aparición ($p<0.01$). Luego del abandono del tratamiento crónico con NIC, las latencias de sueño lento I (16.79 min; -41.68%; $p<0.05$) y II (24.35 min; -42.21%; $p<0.05$) decrecen significativamente, sin embargo, la latencia de sueño MOR se mantiene aumentada a niveles similares al día 7 y 14 (94.36 min; 90%; $p<0.01$). Por otra parte el abandono del cotratamiento crónico de F+N también muestra efectos residuales reflejados en un incremento de la vigilia (16.52%; $p<0.05$) que resulta en una muy ligera disminución tanto del tiempo total de sueño (-8.7%; $p<0.05$) como de su eficiencia (-5.5%), como consecuencia de una reducción del sueño lento II que no alcanza significancia estadística. Por otra parte el sueño MOR no muestra alteraciones significativas.

TABLA 3. CARACTERISTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA DESPUÉS DE 14 DÍAS DE TRATAMIENTO EXPERIMENTAL (MEDIA±EEM)

	CONTROL n=10	FLUOXETINA n=10	NICOTINA n=10	FLUOXETINA+NICOTINA n=10
VIGILIA				
Tiempo total (min)	159.43±13.17	217.31±16.97*	219.35±23.77*	299.73±26.56**
Duración (min)	10.70±0.85	13.00±1.47	13.70±1.91*	19.41±2.67**
Frecuencia	15.2±1.06	18.00±0.95 *	16.75±1.45	16.0±1.07
SUEÑO				
Tiempo total (min)	314.55±10.75	262.83±16.95	260.64±23.77	180.26±26.55*
Eficiencia de sueño (%)	66.80±2.74	54.74±3.54	54.28±4.95	37.54±5.53*
SUEÑO DE ONDAS LENTAS I				
Tiempo total (min)	47.18±3.40	46.36±5.10	45.37±3.11	40.40±5.14
Duración (min)	2.07±0.10	2.50±0.08 *	2.53±0.11*	2.55±0.10 *
Frecuencia	22.7±1.38	18.55±2.00	18.12±1.54	15.71±1.78*
Latencia (min)	40.28±6.30	44.39±8.00	58.50±7.43	59.28±9.79*
SUEÑO DE ONDAS LENTAS II				
Tiempo total (min)	248.59±33.63	195.20±10.67*	190.87±22.46*	130.09±24.42**
Duración (min)	6.88±0.42	11.14±1.41**	10.41±1.32*	9.90±0.85*
Frecuencia	32.1±1.74	19.33±2.12**	20.12±2.82*	13.00±1.86**
Latencia (min)	57.68±9.07	53.57±7.99	78.33±11.28	93.56±39.94*
SUEÑO MOR				
Tiempo total time (min)	56.76±6.80	21.25±7.44**	24.41±4.92*	9.76±3.43**
Duración (min)	2.21±0.14	2.23±0.20	1.99±0.17	2.38±0.38
Frecuencia	25.7±2.65	9.22±3.10**	12.25±2.35*	3.37±1.02**
Latencia (min)	104.91±11.46	135.56±21.08	191.12±27.06*	265.55±44.27**

TABLA 4. CARACTERISTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA DESPUÉS DE 7 DÍAS DE ABANDONO DEL TRATAMIENTO CRÓNICO EXPERIMENTAL (MEDIA±EEM)

	CONTROL n=10	FLUOXETINA n=10	NICOTINA n=10	FLUOXETINA+NICOTINA n=10
VIGILIA				
Tiempo total (min)	159.43±13.17	164.29±4.14	196.44±2.25*	185.76±5.39*
Duración (min)	10.70±0.85	12.42±1.47	14.37±2.82	13.19±2.28
Frecuencia	15.2±1.06	14.40±1.39	18.66±2.68 *	17.0±2.52
SUEÑO				
Tiempo total (min)	314.55±10.75	320.16±3.64ab	287.12±3.13*	287.14±3.10*
Eficiencia de sueño (%)	66.80±2.74	65.76±0.86ab	59.10±0.46*	61.3±1.12*
SUEÑO DE ONDAS LENTAS I				
Tiempo total (min)	47.18±3.40	50.50±4.77	53.77±7.00	49.05±5.86
Duración (min)	2.07±0.10	2.17±0.08	2.71±0.08**	2.54±0.09*
Frecuencia	22.7±1.38	22.00±2.54	19.66±2.42	19.50±2.35
Latencia (min)	40.28±6.30	41.99±3.95	23.49±7.07*	32.76±6.77*
SUEÑO DE ONDAS LENTAS II				
Tiempo total (min)	248.59±33.63	223.09±16.55	199.88±14.46*	210.14±18.77
Duración (min)	6.88±0.42	7.92±0.76	8.54±0.73	8.34±0.79
Frecuencia	32.1±1.74	28.20±1.92	24.33±1.45*	25.25±1.53*
Latencia (min)	57.68±9.07	50.99±5.97	33.33±5.02*	46.20±6.56
SUEÑO MOR				
Tiempo total time (min)	56.76±6.80	54.09±3.7	29.88±0.32*	42.52±4.79
Duración (min)	2.21±0.14	2.39±0.14	2.15±0.08	2.33±0.12
Frecuencia	25.7±2.65	23.0±1.62	14.00±0.50**	18.19±2.76
Latencia (min)	104.91±11.46	90.23±9.46	199.27±7.26**	122.49±25.37

* p<0.05 vs CON ** p<0.01 vs CON *
a y b p<0.05 vs NIC y

B) RATAS CLI

Las ratas CLI muestran un incremento en el sueño MOR *per se* (23.26%; $p < 0.05$) a costa de un decremento del sueño de ondas lentas II (-11.5%; $p < 0.05$) (Fig. 7) cuando se comparan con los mismos parámetros de las ratas intactas. Además, las ratas CLI muestran una latencia de sueño MOR disminuida 23.71 minutos cuando se compara contra las ratas intactas y 29.6 cuando se compara con las ratas tratadas neonatalmente con solución salina (-26.73 vs ratas intactas y -22.67% vs salinas; $p < 0.05$) (Fig. 8).

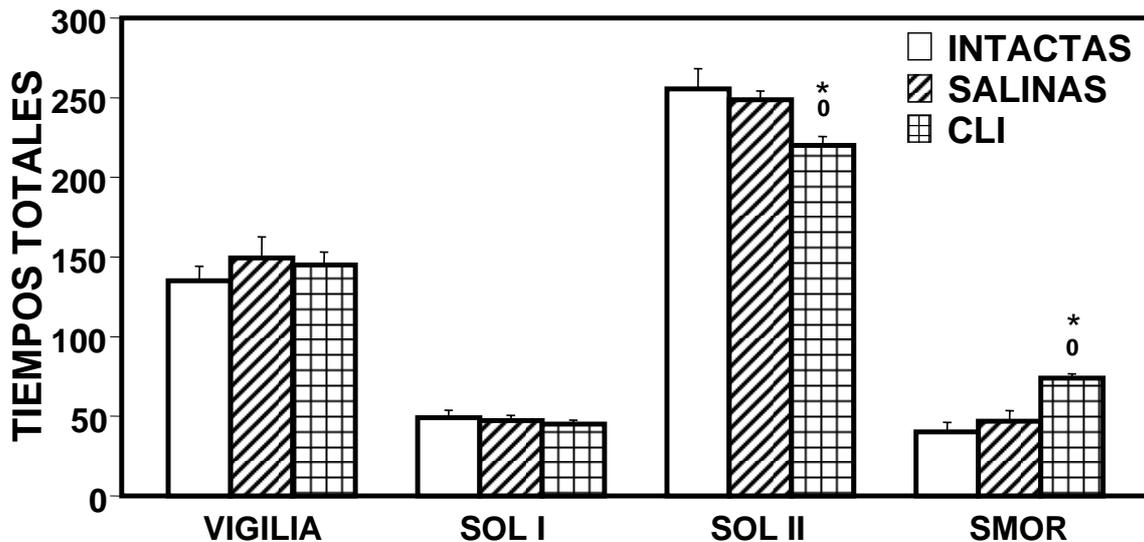


Figura 7. Efecto de la administración neonatal de clomipramina (CLI) sobre la vigilia, el sueño de ondas lentas I y II (SOL I y SOL II) y sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) en relación a sus respectivos controles salinos (SALINAS) y a ratas intactas (INTACTAS). Los datos se expresan como la media del tiempo total en minutos por etapa \pm EEM. * $p < 0.05$ vs intactas; ° $p < 0.01$ vs salinas. ANOVA Kruskal Wallis seguida de prueba post hoc Newman-Keuls análoga.

La figura 4 muestra el efecto de los diferentes tratamientos sobre el patrón de sueño-vigilia en las ratas CLI luego de 1 (agudo), 7 (semicrónico) y 14 (crónico) días de tratamiento y 7 días después del abandono del tratamiento crónico (día 21). Los tres tratamientos (NIC, FLX y F+N) inducen un incremento significativo de la vigilia a costa de un decremento del SOL II y del SMOR desde el primer día de tratamiento, sin afectar de manera significativa al SOL I en los tres días de evaluación. Además de que los tres tratamientos aumentan de manera importante la acortada latencia de sueño MOR observada en las ratas CLI.

El tratamiento agudo (día 1) con FLX incrementa la vigilia en un 63.28% ($p < 0.01$) debido a un aumento significativo en la duración de sus episodios (Tabla 5). En consecuencia, este incremento disminuye el tiempo total de sueño (-27.38%; $p < 0.01$), y

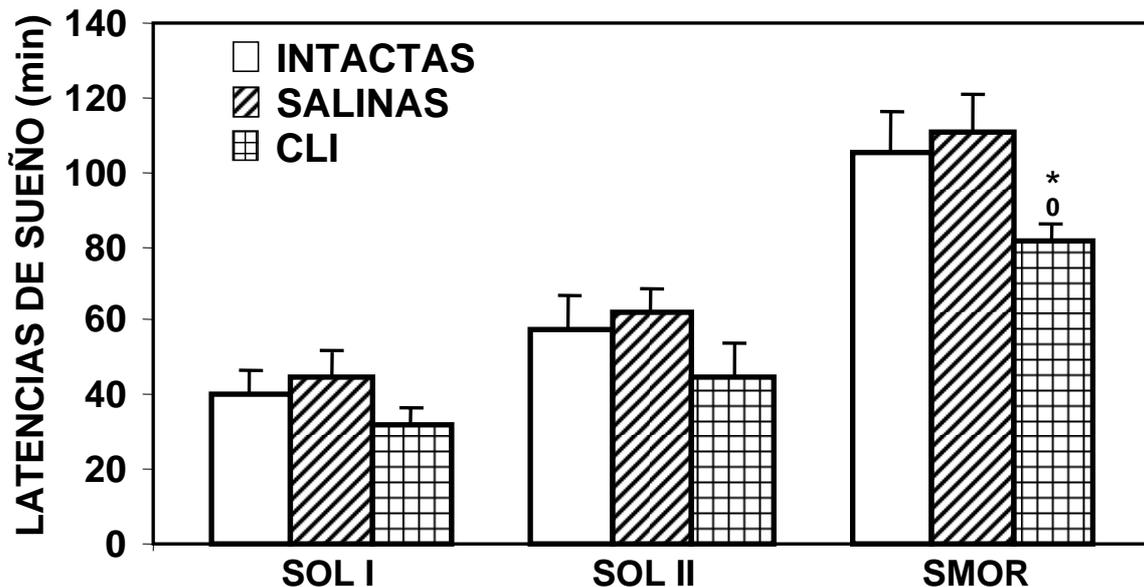


Figura 8. Efecto de la administración neonatal de clomipramina (CLI) sobre las latencias de sueño de ondas lentas I y II (SOL I y SOL II) y de sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) en relación a sus respectivos controles salinos (SALINAS) y a ratas intactas (INTACTAS). Los datos se expresan como la media del tiempo en minutos por etapa \pm EEM. * $p < 0.05$ vs intactas; \circ $p < 0.01$ vs salinas. ANOVA Kruskal Wallis seguida de prueba post hoc Newman-Keuls analoga.

da como resultado la caída en la eficiencia de sueño (-27.4%; $p < 0.01$). La disminución del tiempo total de sueño es producto de un decremento del sueño de ondas lentas II (-19.47% $p < 0.01$) comparativamente menor que el inducido en las ratas intactas (-33%). Este efecto es causado, a su vez, por una disminución de su frecuencia de aparición ($p < 0.01$), sin alteración significativa en la duración de sus episodios (Tabla 1). El tratamiento agudo con FLX reduce de manera significativa el sueño MOR (-74.33 %; $p < 0.01$), efecto mayor que el observado en las ratas intactas (61.47%). Este efecto se deriva de una marcada reducción en su frecuencia de aparición (-67.6%; $p < 0.05$) (Tabla 5). Por otra parte, la administración aguda de NIC tiene efectos similares a la FLX pero en menor grado. Así, la NIC incrementa la vigilia en un 38% ($p < 0.01$), efecto menor cuando se compara con el producido en las ratas intactas (78%). Este efecto es producido por el incremento significativo en la duración de sus episodios ($p < 0.01$) (Tabla 1). En consecuencia, disminuye el tiempo total de sueño (-16.61%; $p < 0.05$) y la eficiencia de sueño (-16.63%; $p < 0.05$). La reducción del tiempo total de sueño es dada como resultado de una leve pero significativa disminución del sueño de ondas lentas II (-9.4%; $p < 0.01$), producido por un decremento en su frecuencia de aparición ($p < 0.05$) (Tabla 5) sin

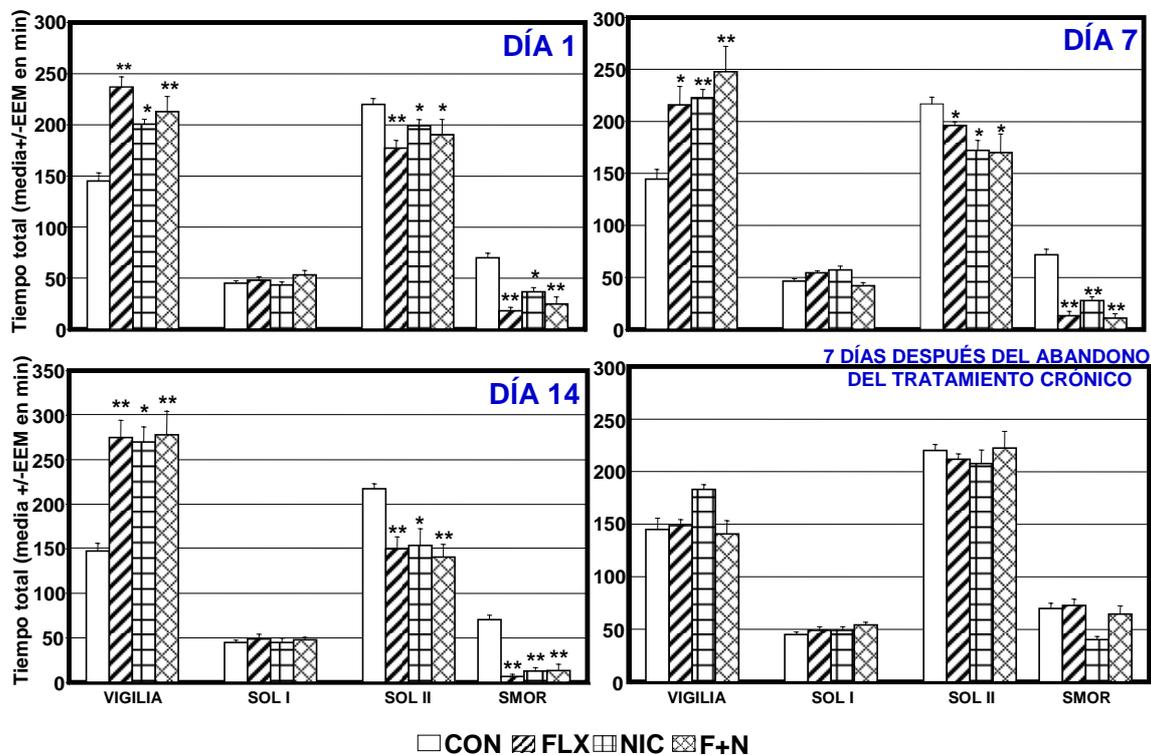


Figura 9. Efecto de la administración de los diferentes tratamientos sobre la vigilia, el sueño de ondas lentas I y II (SOL I y SOL II) y sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) en ratas tratadas neonatalmente con clomipramina (CLI) luego de 1 (agudo), 7 (semicrónico) y 14 (crónico) días de tratamiento y 7 días después del abandono del tratamiento crónico (día 21). Fluoxetina (FLX), nicotina (NIC) y el tratamiento combinado (F+N) en relación a sus respectivos controles (CON). Los datos se expresan como la media del tiempo total en minutos por etapa \pm EEM. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ vs control. ANOVA Kruskal Wallis seguida de prueba post hoc Newman-Keuls analoga.

ninguna alteración en su duración promedio por episodio. El tratamiento agudo con NIC reduce de manera significativa el sueño MOR (-43.28%; $p < 0.05$), efecto también menor al observado luego del tratamiento agudo en las ratas intactas. La reducción del sueño MOR es dada como consecuencia de una disminución tanto en su frecuencia de aparición (-30.36%; $p < 0.01$) como de su duración promedio (-26.22%; $p < 0.05$) (Tabla 5). Con respecto al cotratamiento agudo F+N, su administración incrementa también el tiempo total de vigilia hasta un 46.88% ($p < 0.01$), efecto menor al observado en las ratas intactas. Este efecto es debido al incremento en la frecuencia de sus episodios (45%; $p < 0.01$) (Tabla 5). Como resultado hay una disminución de cerca del 20% en el tiempo total de sueño (-19.89%; $p < 0.01$) y a su vez, de la eficiencia de sueño (-20.16%; $p < 0.05$).

TABLA 5. CARACTERISTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA EN LAS RATAS CLI DESPUÉS DEL PRIMER DÍA DE TRATAMIENTO EXPERIMENTAL (MEDIA±EEM)

	CONTROL n=10	FLUOXETINA n=10	NICOTINA n=10	FLUOXETINA+NICOTINA n=10
VIGILIA				
Tiempo total (min)	144.98±8.15	236.73±16.56 **	200.63±4.92 *	212.96±14.76**
Duración (min)	12.96±1.355	13.67±0.77	15.56±0.95	12.30±0.92
Frecuencia	12.0±1.13	17.4±0.26 **	13.20±0.65 **	17.4±0.34 **
SUEÑO				
Tiempo total (min)	335.01±8.15	243.26±10.30 **	279.36±4.92 *	268.36±15.26**
Eficiencia de sueño (%)	69.79±1.69	48.08±3.45 **	58.18±1.02 *	55.72±3.11**
SUEÑO DE ONDAS LENTAS I				
Tiempo total (min)	45.05±2.47	48.16±0.75	43.36±2.91	53.16±4.43
Duración (min)	2.50±0.09	2.74±0.08	2.59±0.09	3.13±0.07**
Frecuencia	18.2±1.30	18.40±0.80	16.80±1.10	17.00±1.35
Latencia (min)	32.16±2.37	59.76±7.96 *	70.66±4.56 **	65.66±5.73 **
SUEÑO DE ONDAS LENTAS II				
Tiempo total(min)	219.98±5.75	177.13±7.63 **	199.29±5.95 *	190.49±15.09 *
Duración (min)	8.06±0.36	9.73±0.46	9.54±0.95	11.22±0.86 *
Frecuencia	27.8±1.53	18.40±0.80 **	22.40±1.81 *	17.80±1.67**
Latencia (min)	45.08±4.69	78.03±4.27**	90.99±9.53 **	77.36±6.21 *
SUEÑO MOR				

TABLA 6. CARACTERISTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA EN LAS RATAS CLI DESPUÉS DEL DÍA 7 DE TRATAMIENTO EXPERIMENTAL (MEDIA±EEM)

	CONTROL n=10	FLUOXETINA n=10	NICOTINA n=10	FLUOXETINA+NICOTINA n=10
VIGILIA				
Tiempo total (min)	154.58±9.32	215.82±18.04 *	222.81±8.04 **	247.90±24.47**
Duración (min)	12.68±1.60	12.98±0.86	12.95±1.08	16.88±3.24
Frecuencia	12.37±1.06	16.86±1.30 *	18.22±1.44 **	16.0±1.05*
SUEÑO				
Tiempo total (min)	335.41±9.32	274.47±17.53 *	266.22±14.13 *	231.79±24.33**
Eficiencia de sueño (%)	69.87±1.93	57.16±3.65 *	53.61±1.67 **	48.34±5.08**
SUEÑO DE ONDAS LENTAS I				
Tiempo total (min)	49.6±2.24	54.62±1.86	57.22±3.72	42.11±3.14
Duración (min)	2.48±0.10	2.80±0.14	2.97±0.08*	3.20±0.17**
Frecuencia	19.00±1.38	19.71±1.32	19.44±1.57	13.55±1.39*
Latencia (min)	30.41±2.49	37.21±6.39	56.19±7.51*	59.35±5.49**
SUEÑO DE ONDAS LENTAS II				
Tiempo total(min)	216.89±6.44	196.23±3.45 *	172.25±9.45 *	170.18±17.86*
Duración (min)	7.93±0.44	11.00±0.75 **	9.60±0.75 *	11.00±0.64**
Frecuencia	28.00±1.92	18.00±1.07 *	18.33±0.86 *	15.77±1.69**
Latencia (min)	40.93±4.27	50.71±5.68 *	67.59±9.54 *	68.62±6.27*
SUEÑO MOR				
Tiempo total time (min)	71.91±5.35	13.31±4.25 **	27.88±3.67 *	10.83±4.45**
Duración (min)	2.92±0.20	1.89±0.35	2.47±0.20	2.33±0.49
Frecuencia	25.00±1.98	6.28±2.15 **	11.00±0.89*	6.77±2.37**
Latencia (min)	82.54±6.24	212.99±41.02 **	136.61±18.92 *	158.72±29.13**

* p<0.05 vs CON ** p<0.01 vs CON

Este decremento del tiempo total de sueño se deriva de una ligera pero significativa reducción del sueño de ondas lentas II (-13.40%; $p < 0.05$), por una caída significativa tanto en su frecuencia de aparición (-35.97; $p < 0.05$) como en la duración de sus episodios (39.2%; $p < 0.05$) (Tabla 5). Por otro lado, el sueño de ondas lentas I, sufre un aumento en su duración promedio por episodio (25%; $p < 0.01$), sin embargo estos efectos no alcanzan a reflejarse en el tiempo total (Tabla 5). El cotratamiento agudo con F+N reduce de manera significativa el sueño MOR (-64.71; $p < 0.01$) pero no al nivel de lo observado en las ratas intactas (-74.58%). Este efecto es dado como consecuencia de una reducción en su frecuencia (-58.7; $p < 0.01$) y en su duración promedio (-22.72%; $p < 0.05$) (Tabla 5). Además, y a diferencia de los efectos individuales de cada fármaco, la latencia de sueño MOR se prolonga notoriamente en cerca de 145 minutos con respecto al control salino (178.67 min; $p < 0.01$), efecto mucho mayor al observado en las ratas intactas (45 minutos) (85.3%). Las latencias de sueño son incrementadas por los tres tratamientos (Tabla 5). La fluoxetina amplía la latencia de sueño lento I en 27.6 minutos (85.82%; $p < 0.05$), el sueño lento II en 32.95 minutos (73.09%; $p < 0.01$) y el sueño MOR en 108.04 minutos (133.22%; $p < 0.01$). Por otra parte, la nicotina prolonga la latencia de sueño lento I en 38.5 minutos (119.71%; $p < 0.01$), el sueño lento II en 45.91 minutos (101.84%; $p < 0.01$) y el sueño MOR en 68.31 minutos (84.2%; $p < 0.01$). Mientras que el tratamiento combinado amplía la latencia de sueño lento I en 33.5 minutos (104.16%; $p < 0.01$), el sueño lento II en 32.28 minutos (71.6%; $p < 0.05$) y el sueño MOR en 144.94 minutos (178.67%; $p < 0.01$). Estos efectos contrastan con los obtenidos en las ratas intactas en donde no se alteran las latencias, salvo la latencia de sueño MOR con el tratamiento combinado.

Esta respuesta general del ciclo sueño-vigilia ante los tres tratamientos se mantiene luego de 7 días, sin embargo, el incremento en la cantidad de vigilia es mucho menor que al primer día y es debido a un aumento en su frecuencia pero no de su duración promedio (Tabla 6). En detalle, la administración subcrónica de FLX incrementa la vigilia a un nivel un poco menor al observado al día 1 (49.27%) ($p < 0.05$), este efecto es producido por un aumento en su frecuencia de aparición (36.29%; $p < 0.05$) y no a su duración promedio. Como resultado, disminuye el tiempo total de sueño (-18.16%; $p < 0.05$) y a su vez, la eficiencia de sueño en la misma proporción (-18.19%; $p < 0.05$). De manera similar al tratamiento agudo, la disminución del tiempo total de sueño es producto de una ligera caída del sueño de ondas lentas II (-9.52%; $p < 0.05$), producido por un decremento significativo de su frecuencia de aparición (-35.71; $p < 0.01$) a pesar de una elevación significativa en la duración de sus episodios (38.71%; $p < 0.01$) (Tabla 6). El tratamiento

subcrónico con FLX reduce drásticamente el sueño MOR (-81.49%; $p < 0.01$), derivado de una reducción en su frecuencia (-74.88%; $p < 0.01$) (Tabla 2). La latencia de sueño MOR se amplía en 130.45 min (-158.01%; $p < 0.01$) a efecto de este tratamiento. Por otra parte, la administración de NIC luego de 7 días aumenta aún más la vigilia (54.1%; $p < 0.01$) en comparación al día 1 (38.38%), pero no a los niveles observados en las ratas intactas (66.76%). Este efecto reduce a su vez el tiempo total de sueño (-20.6) y la eficiencia de sueño (-23.27%; $p < 0.01$). Del mismo modo que con el tratamiento agudo, la reducción en la eficiencia de sueño es producido por la caída del sueño de ondas lentas (-20.5%; $p < 0.05$) debido a un descenso en su frecuencia de aparición (-34.5%; $p < 0.05$) (Tabla 6). En el caso del sueño MOR, este se mantiene reducido (-61.22%; $p < 0.01$) a niveles mayores que el primer día (-47.57%). Esta caída inducida por la NIC es producto de un decremento en la frecuencia de aparición (56%; $p < 0.05$) (Tabla 6). Este tratamiento prolonga la latencia de sueño lento I (25.78 minutos; 86%; $p < 0.05$), II (26.66 minutos; 65.13%; $p < 0.05$) y de sueño MOR (54 minutos; 65.5%; $p < 0.05$). Por lo que respecta a la coadministración subcrónica de F+N, este tratamiento incrementa la vigilia (71.46%; $p < 0.01$) aún más que los niveles observados después de la administración aguda (46.88%), debido principalmente a un aumento en su frecuencia ($p < 0.05$). Como resultado, el tiempo total de sueño (-30.89%; $p < 0.05$) y eficiencia de sueño (38.81%; $p < 0.05$) disminuyen. Este efecto en el tiempo total de sueño es producto de una decremento en el sueño de ondas lentas II (-21.53%; $p < 0.05$), efecto menor que con las ratas intactas. Este efecto se deriva de una disminución en su frecuencia de aparición (-43.67%; $p < 0.01$) aún cuando su duración promedio aumenta significativamente (38.71%; $p < 0.01$). De manera similar que con la administración subcrónica de fluoxetina, la administración combinada F+N disminuye drásticamente el tiempo de sueño MOR (-84.9%; $p < 0.01$) en relación al control y al tratamiento agudo (-64.43%). Este efecto es producto de un decremento sustancial de la frecuencia de aparición (-72.92%; $p < 0.01$) a niveles similares a los observados con FLX (Tabla 6). Además, el tratamiento combinado alarga las tres latencias de sueño. La latencia de sueño lento I en un 95.16% (28.94 minutos; $p < 0.01$), de lento II en 67.65% (27.69 minutos; $p < 0.05$) y de sueño MOR en 92.29% (76.18 minutos; $p < 0.05$).

TABLA 7. CARACTERISTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA EN LAS RATAS CLI DESPUÉS DEL DÍA 14 DE TRATAMIENTO EXPERIMENTAL (MEDIA±EEM)

	CONTROL n=10	FLUOXETINA n=10	NICOTINA n=10	FLUOXETINA+NICOTINA n=10
VIGILIA				
Tiempo total (min)	144.98±8.15	148.50±5.78	183.05±4.69 *	140.66±12.78
Duración (min)	12.96±1.35	13.35±2.08	14.72±0.77	9.28±0.27*
Frecuencia	12.0±1.13	14.00±1.48	12.66±0.92	15.00±0.96
SUEÑO				
Tiempo total (min)	335.01±8.15	331.88±13.02	296.44±4.69 *	341.00±12.57
Eficiencia de sueño (%)	69.79±1.69	69.13±2.70	61.86±0.97	70.80±2.65
SUEÑO DE ONDAS LENTAS I				
Tiempo total (min)	45.05±2.47	49.07±3.40	48.99±3.45	54.22±2.55
Duración (min)	2.50±0.09	2.69±0.20	3.49±0.24 **	3.14±0.15*
Frecuencia	18.2±1.30	18.00±1.63	14.00±0.01	17.33±0.84
Latencia (min)	32.16±2.37	33.61±1.79	46.66±8.23	42.66±5.62
SUEÑO DE ONDAS LENTAS II				
Tiempo total(min)	219.98±5.75	211.66±5.35	207.72±2.99	222.33±16.06
Duración (min)	8.06±0.36	8.77±0.61	11.25±0.95 *	8.47±0.59
Frecuencia	27.8±1.53	26.66±2.06	19.33±1.73 *	26.33±1.12
Latencia (min)	45.08±4.69	44.72±4.68	51.66±8.58	47.11±5.94
SUEÑO MOR				
Tiempo total time (min)	69.79±4.44	72.68±6.06	40.15±3.13 *	64.44±7.89
Duración (min)	2.68±0.17	2.84±0.09	2.82±0.04	3.13±0.31
Frecuencia	24.7±1.62	21.33±2.55	14.33±1.28 **	20.33±0.33
Latencia (min)	81.12±5.27	97.77±11.71	70.44±6.85	76.72±5.61

* p<0.05 vs CON ** p<0.01 vs CON

TABLA 8. CARACTERISTICAS DEL CICLO SUEÑO-VIGILIA EN LAS RATAS CLI DESPUÉS DE 7 DÍAS DE ABANDONO DEL TRATAMIENTO CRÓNICO EXPERIMENTAL (MEDIA±EEM)

	CONTROL n=10	FLUOXETINA n=10	NICOTINA n=10	FLUOXETINA+NICOTINA n=10
VIGILIA				
Tiempo total (min)	154.58±9.32	215.82±18.04 *	222.81±8.04 **	247.90±24.47**
Duración (min)	12.68±1.60	12.98±0.86	12.95±1.08	16.88±3.24
Frecuencia	12.37±1.06	16.86±1.30 *	18.22±1.44 **	16.0±1.05*
SUEÑO				
Tiempo total (min)	335.41±9.32	274.47±17.53 *	266.22±14.13 *	231.79±24.33**
Eficiencia de sueño (%)	69.87±1.93	57.16±3.65 *	53.61±1.67 **	48.34±5.08**
SUEÑO DE ONDAS LENTAS I				
Tiempo total (min)	49.6±2.24	54.62±1.86	57.22±3.72	42.11±3.14
Duración (min)	2.48±0.10	2.80±0.14	2.97±0.08*	3.20±0.17**
Frecuencia	19.00±1.38	19.71±1.32	19.44±1.57	13.55±1.39*
Latencia (min)	30.41±2.49	37.21±6.39	56.19±7.51*	59.35±5.49**
SUEÑO DE ONDAS LENTAS II				
Tiempo total(min)	216.89±6.44	196.23±3.45 *	172.25±9.45 *	170.18±17.86*
Duración (min)	7.93±0.44	11.00±0.75 **	9.60±0.75 *	11.00±0.64**
Frecuencia	28.00±1.92	18.00±1.07 *	18.33±0.86 *	15.77±1.69**
Latencia (min)	40.93±4.27	50.71±5.68 *	67.59±9.54 *	68.62±6.27*
SUEÑO MOR				
Tiempo total time (min)	71.91±5.35	13.31±4.25 **	27.88±3.67 *	10.83±4.45**
Duración (min)	2.92±0.20	1.89±0.35	2.47±0.20	2.33±0.49
Frecuencia	25.00±1.98	6.28±2.15 **	11.00±0.89*	6.77±2.37**
Latencia (min)	82.54±6.24	212.99±41.02 **	136.61±18.92 *	158.72±29.13**

* p<0.05 vs CON ** p<0.01 vs CON

disminución en el sueño total también tiene un impacto similar sobre la eficiencia de sueño (-38.94%; $p < 0.01$) y es resultado de una caída en el sueño de ondas lentas II (-31.04%; $p < 0.01$) derivado de una reducción en su frecuencia (-45.98%; $p < 0.01$) (Tabla 7). Además, este tratamiento alarga sustancialmente la latencia de sueño MOR en un 205.63% (170.59 minutos; $p < 0.01$). Para el caso de la NIC, esta también tiene mayor efecto sobre la vigilia (82.9%; $p < 0.01$) debido a un incremento en su frecuencia ($p < 0.05$). Este efecto disminuye el sueño de ondas lentas II (-29.24%; $p < 0.05$) por efecto de una caída en su frecuencia ($p < 0.05$), así como por una reducción mayor en el tiempo de sueño MOR (-81.97%; $p < 0.05$) en relación al día 1 (-64.71%) y 7 (-61.22) de tratamiento y derivado de una reducida frecuencia de aparición ($p < 0.05$). La latencia de esta etapa también se ve marcadamente aumentada (103.45 min; 124.69%; $p < 0.05$). Por otro lado, la coadministración de los dos fármacos, F+N, incrementa la vigilia (88.63%; $p < 0.01$) a niveles mayores que los observados el día 7 (71.46%). Este efecto disminuye tanto el tiempo total (-39.87%; $p < 0.01$) como la eficiencia de sueño (-39.83%; $p < 0.01$). Esto es consecuencia de una reducción del sueño de ondas lentas II (-35.25%; $p < 0.01$) y a su vez de una disminución de la frecuencia de aparición (54.44%; $p < 0.01$). De manera similar al día 7, también se observa un importante descenso en el tiempo de sueño MOR (-81.24%; $p < 0.01$) como producto de una drástica disminución de su frecuencia de aparición (-84.72%; $p < 0.01$) y en su duración media (-39.86%; $p < 0.01$). Al igual que con el tratamiento subcrónico, la administración de F+N prolonga las latencias de sueño, 106.02% (33.77 min; $p < 0.01$) para el sueño lento I, 93.21% (41.51 min; $p < 0.05$) para el sueño lento II y 156.9% (130.17 min; $p < 0.05$) para el sueño MOR (Tabla 7).

Por otra parte, luego de 7 días de abandono del tratamiento crónico con FLX existen efectos residuales con una vigilia incrementada y un tiempo total de sueño disminuido (-18.16%; $p < 0.05$) debido a un decremento en el sueño de ondas lentas II (-9.5%; $p < 0.05$) y de sueño MOR (-81.5%; $p < 0.01$) (Tabla 8), con latencias de sueño lento II (+26.75; $p < 0.05$) y de sueño MOR alargadas (158%; $p < 0.01$). Por otro lado, el tratamiento con NIC muestra efectos residuales, similares a los observados en las ratas intactas, al mantenerse elevado el tiempo de permanencia en vigilia (26.25%; $p < 0.05$) producto de un incremento no significativo en su frecuencia y a costa de una disminución, que no alcanza significancia estadística, del tiempo en SOL II (-5.57%) y del SMOR (-42.47%; $p < 0.05$). Estos efectos sobre el sueño se ven reflejados en una ligera disminución tanto del tiempo total (-11.36%; $p < 0.05$) como de la eficiencia de sueño (-

11.36%)(Tabla 8). Por otra parte el abandono del cotratamiento crónico de F+N también muestra algunos efectos residuales.

12 DISCUSIÓN

La propuesta de este estudio fue determinar el posible mecanismo antidepresivo de la nicotina sobre la prueba de nado forzado y sobre el patrón de sueño luego de su administración aguda, subcrónica y crónica y después del abandono del tratamiento crónico. Además de estudiar la interacción entre el sistema nicotínico y el sistema serotoninérgico a través del efecto de la coadministración de nicotina con el inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina, fluoxetina.

Efectos de la nicotina, fluoxetina y la combinación de ambos sobre la prueba de nado forzado (PNF)

Nuestros resultados muestran que el tratamiento agudo, subcrónico y crónico con nicotina reducen el tiempo de inmovilidad e incrementan el tiempo de nado en la PNF tanto en ratas intactas como en el modelo animal de depresión de las ratas CLI, estos resultados sugieren también que este efecto es mediado por algún mecanismo que involucra al sistema serotoninérgico. Es importante matizar que los tres tratamientos normalizan los valores de inmovilización observados en las ratas CLI hasta valores similares a los que se observan en animales intactos y en sus controles salinos. Otro dato importante es que la evaluación de las conductas activas muestran alteraciones del sistema serotoninérgico en las ratas CLI, expresadas en valores de nado menores que las ratas tratadas neonatalmente con solución salina y que las ratas intactas. Este dato conductual apoya las observaciones sobre la disminución de la actividad neuronal del núcleo del rafé (Yavari et al, 1993), así como disminución en la expresión del transportador de serotonina, en este mismo núcleo, que podrían resultar en una alterada neurotransmisión serotoninérgica en el sistema nervioso central de las ratas CLI (Hansen y Mikkelsen, 1998; Feestra et al 1996).

Un dato interesante de nuestros resultados es que los valores de inmovilidad basal para la cepa de ratas Wistar, utilizadas en este trabajo y en condiciones similares, son mucho mayores que para otras cepas utilizadas en otros estudios, como las ratas Sprague-Dawley (p.e. Detke et al, 1995a, 1995b; Page et al, 1999; Reneric y Lucki, 1998). Mientras las ratas Sprague-Dawley muestran cuentas de inmovilidad en un rango de 25-35 (30.4 ± 2.2), la cepa Wistar muestra valores mayores de 40 ± 0.63 . En el caso de la conducta de nado, las ratas Wistar muestran cuentas en un rango de 9.5 ± 0.79 mientras

que las ratas de la cepa Sprague-Dawley muestra valores de entre 10-20 (14.1 ± 1.4). Además, las ratas Wistar muestran cuentas de escalamiento en un rango de 9.7 ± 1.41 en comparación con las ratas Sprague-Dawley con valores de 15-20 (18.8 ± 1.7). En resumen, las ratas de la cepa Wistar muestran *per se* mayor inmovilidad (+31.58%), menos nado (-32.62%) y escalamiento (-48.4%) que las ratas de la cepa Sprague-Dawley. Estas diferencias sugieren la existencia de importantes factores genéticos que contribuyen a la respuesta conductual diferencial en la PNF de cada cepa y posiblemente en su sensibilidad para múltiples clases de antidepresivos, como ha sido observado al evaluar el efecto antidepresivo de diferentes fármacos en la versión de la prueba de nado forzado para ratón (Lucki, 2001). Otro aspecto a considerar para explicar la respuesta diferencial de las ratas Wistar en relación con las ratas Sprague-Dawley en la PNF, es su sensibilidad o resistencia al estrés. Se ha sugerido que las ratas Wistar son más resistentes al estrés, cuando se evalúa su respuesta hipertensiva, que otras cepas (Sudakov et al, 2001) e inclusive en su respuesta a antidepresivos (Tejani-Butt et al, 2003). En este sentido, las ratas Wistar CLI, muestran significativamente mayor conducta de inmovilidad (+25%) y menos conducta de nado (-52.63%) cuando se comparan con las ratas Wistar intactas y sus controles tratados neonatalmente con solución salina, sin observarse diferencias significativas en la conducta de escalamiento.

En cuanto a la vinculación entre la nicotina y la depresión, estudios clínicos y epidemiológicos han demostrado una correlación positiva entre la dependencia a la nicotina y la depresión mayor. Así, el hábito de fumar tiene una mayor prevalencia en sujetos con depresión (46-65%) que en la población general (26%) (Pomerleu et al, 1995; Breslau et al, 1992). Los adolescentes con desordenes depresivos muestran 4.6 veces mayor propensión a fumar que aquellos sin desordenes depresivos (Ferguson, 1996). Además, sujetos con depresión mayor tienen mayor dificultad para dejar de fumar debido a la aparición de severos episodios depresivos o de síntomas de abstinencia (Glassman et al, 1990; 2001; Breslau et al, 1992; Dalack et al, 1995; Stage, 1996; Covey, 1999; Covey et al 1998; 2000). En adición a lo anterior, el bupropión, un antidepresivo bien establecido, ha sido utilizado con éxito para el tratamiento para dejar de fumar (Boshier et al, 2003; Jorenby et al, 1999; Shiffman et al, 2000;). Una interpretación de estos datos sugiere que la gente con depresión mayor utiliza la nicotina del cigarro como una forma de automedicación.

Diversos estudios han observado que la nicotina posee alguna actividad como antidepresivo. Así, se ha demostrado que la administración transdérmica de nicotina mejora el estado de ánimo, evaluado a través de la escala de depresión de Hamilton, en pacientes con depresión (Salín-Pascual et al, 1995; 1996; Salín-Pascual y Drucker-Colin, 1998). Estudios conductuales en tres modelos animales de depresión sugieren que la nicotina puede tener propiedades antidepresivas a largo plazo. La única evaluación de los efectos de la nicotina en las ratas CLI muestra que disminuye el consumo de alcohol incrementado *per se* en este modelo (Martínez-González et al, 2002) y que se ha relacionado con la comorbilidad en sujetos deprimidos (Rodgers et al, 2000; Spak et al, 2000). El paradigma de desamparo aprendido en ratas, otro modelo animal de depresión, que muestra deficiencias en la conducta de escape ante un estímulo aversivo, también muestra un mejoramiento en la ejecución de esta conducta, inducido por el tratamiento crónico (14 días) con nicotina (Semba et al, 1998). La Línea de ratas Flinders Sensibles seleccionadas por su hipersensibilidad colinérgica, y desarrolladas como un modelo animal de depresión, muestran una exagerada inmovilidad en la prueba de nado forzado. La administración aguda o crónica de nicotina disminuye significativamente la inmovilidad de estas ratas en la prueba de nado forzado (Tizabi et al, 1999). El hecho de que en nuestro estudio la administración aguda (1 día) de nicotina produce disminución de la inmovilidad en la prueba de nado forzado, sugiere un efecto directo de la nicotina, como también ha sido observado en las ratas Flinders Sensibles (Tizavi et al, 2000). Además, la evaluación de las conductas activas en la prueba de nado forzado no refleja un incremento de la actividad motora general, e inclusive el tratamiento con estas drogas antidepresivas (fluoxetina, sertralina y paroxetina) (Detke et al, 1995a, 1995b) o con nicotina (Tizabi et al, 1999), no solo no alteran sino que, inclusive, reducen la actividad motora. Nuestros resultados tanto en ratas intactas como en ratas CLI son consistentes con la información anterior y sugieren, por primera vez, que el posible mecanismo que media el efecto antidepresivo de la nicotina podría involucrar al sistema serotoninérgico, como ha sido observado a través de la prueba de nado forzado para el caso de los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina, fármacos usados comúnmente para el tratamiento de la depresión como la fluoxetina, sertralina y paroxetina (Para revisión: Gorman y Kent, 1999). Así, corroboramos que la fluoxetina, de manera similar a la nicotina, disminuye la inmovilidad e incrementa la conducta de nado sin afectar la conducta de escalamiento (Detke et al, 1995a; Page et al, 1999). Además de que la depleción de 5-HT inducida por la administración de PCPA previene los efectos de la

fluoxetina en la PNF (Page et al, 1999). Sin embargo, son necesarios más estudios para probar de manera directa que los efectos de la nicotina sobre la prueba de nado forzado son mediados por el sistema serotoninérgico induciendo, por ejemplo, la depleción de 5-HT con la administración de PCPA, como ha sido demostrado para la fluoxetina (Page et al, 1999). Nuestros resultados muestran también que la depresión puede producir sus efectos conductuales a través de diferentes mecanismos de neurotransmisión sugiriendo en consecuencia que distintos mecanismos pueden mediar los efectos de diferentes drogas antidepresivas.

Es bien reconocido que la nicotina es el principal ingrediente psicoactivo del tabaco. La nicotina es uno de los pocos agonistas colinérgicos que puede penetrar la barrera hemato encefálica. De hecho la nicotina administrada a través del cigarro entra a la circulación sanguínea y pasa a los capilares cerebrales y a través de la barrera hematoencefálica alcanzando al cerebro en 7 segundos (US Department of Health and Human Services, 1988). La nicotina puede alcanzar el cerebro muy rápido y puede influir sobre la función de diferentes sistemas de neurotransmisión (acetilcolina, dopamina, norepinefrina y serotonina). Los efectos centrales de la nicotina son mediados por receptores colinérgicos nicotínicos que se distribuyen ampliamente en el cerebro. La mayoría de los receptores nicotínicos centrales son localizados presinápticamente (Vizi y Lendvai, 1999; Wonnacott, 1997; Wonnacott et al, 1989). La estimulación de estos receptores puede influenciar la liberación o la actividad de otros sistemas de neurotransmisión como la serotonina (Vizi y Lendvai, 1999; Wonnacott, 1997; Wonnacott et al, 1989). Se ha determinado, por ejemplo, la presencia de receptores nicotínicos en el núcleo dorsal del rafé de ratas (Segal et al, 1978). Se ha observado además que la activación de estos receptores a través de la nicotina incrementa la tasa de disparo de las neuronas del núcleo del rafé dorsal *in vitro*, mientras que simultáneamente se aumenta la liberación de serotonina (Li et al, 1998; Mihailescu et al, 1998). A pesar de este efecto en receptores nicotínicos presinápticos, también es posible que el incremento en la liberación de neurotransmisores, sea mediado en varios receptores postsinápticos, lo cual ha sido sugerido como el mecanismo usual por el cual la nicotina modula la conducta (Wonnacott, 1997). De estos receptores postsinápticos, el receptor 5-HT_{1A} es particularmente importante en mediar los efectos conductuales inducidos por la nicotina (File et al, 2000). Por otra parte, otra explicación plausible se sustenta en los efectos reductores del estrés, inducidos por la nicotina y su influencia moduladora sobre el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, alterado en un alto porcentaje de pacientes deprimidos, fenómeno que podría

también jugar un papel importante en sus efectos antidepresivos (Balfour y Fagerström, 1996; Matta et al, 1998).

Nuestros resultados también corroboran los efectos antidepresivos de la fluoxetina en la dosis reportada de 5 mg/kg de peso en la prueba de nado forzado (Detke et al 1995a). Sin embargo, el efecto de la fluoxetina no se observa sino hasta el día 7 de tratamiento, que corresponde al tratamiento semicrónico. Esto podría explicarse por las diferencias en el esquema de administración de los diferentes tratamientos. Mientras que Detke et al. (1995a) administraron tres veces la fluoxetina (5 mg/kg) durante un intervalo de 24 h (23.5, 5 y 1 hora) antes de la PNF, nosotros, tratando de simular un esquema de tratamiento más cercano al uso clínico, administramos una dosis efectiva diaria durante 14 días, evaluando la PNF al día 1 que corresponde al tratamiento agudo, al día 7 correspondiente al tratamiento subcrónico y al día 14 que sugiere el tratamiento crónico. El patrón de respuesta temporal a la fluoxetina con este esquema, refleja el patrón de respuesta observado clínicamente. De este modo, la fluoxetina no produce efecto en la PNF luego del tratamiento agudo, como se ha observado al evaluar el efecto antidepresivo clínicamente (Para revisión: Thompson, 2002). En este sentido, la mayoría de los antidepresivos tienen efectos tardíos con una latencia antidepresiva clínica de 4 a 6 semanas, siendo este intervalo de tiempo una limitante para la adherencia terapéutica al tratamiento farmacológico y para disminuir el riesgo de suicidio (Thompson, 2002). Un dato interesante del presente trabajo es que el cotratamiento de fluoxetina con nicotina reduce la latencia antidepresiva de la fluoxetina en la PNF comparado con el tratamiento con cada fármaco individual. Estos resultados sugieren también que el tratamiento combinado, fluoxetina más nicotina, podría permitir una disminución de la latencia antidepresiva y en consecuencia, un efecto clínico más rápido, presumiblemente por los efectos rápidos inducidos por la nicotina. La combinación de fluoxetina más nicotina podría también limitar el tratamiento prolongado con la nicotina lo que evitaría los riesgos de adicción, de la aparición de efectos secundarios y del síndrome de abstinencia, observado luego de la exposición crónica.

Existe también considerable evidencia ligada a la acción de los antidepresivos tricíclicos clásicos y de los nuevos inhibidores de la recaptura de serotonina sobre los nAChRs. Los antidepresivos tricíclicos imipramina, desipramina, amitriptilina y nortriptilina producen inhibición no competitiva de los nAChRs (Fairclough et al, 1993; Dalack et al, 1995; Garcia-Colunga et al, 1997; Hennings et al, 1997; Fryer y Lukas, 1999). La fluoxetina bloquea la corriente en nAChRs de manera dependiente de voltaje,

incrementando la tasa de sensibilización del receptor (Garcia-Colunga et al, 1997). Además, en rebanadas de hipocampo de rata, la fluoxetina inhibe la liberación de noradrenalina inducida por la nicotina de manera dosis dependiente (Hennings et al, 1997). Estos resultados podrían explicar por qué la administración de nicotina induce incrementos en la conducta de nado y no en la conducta de escalamiento, esta última mediada por la activación noradrenérgica (Detke et al, 1995a, 1995b).

Estudios clínicos y en animales han sugerido un papel crítico de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}, en la respuesta antidepresiva (Lucki et al, 1994; Barnes y Sharp, 1999; Cryan y Leonard 2000; Cryan y Lucki, 2000). Así, como la nicotina altera la neurotransmisión serotoninérgica, es posible que la nicotina module la expresión del receptor 5-HT_{1A} e incluso otros receptores a serotonina en regiones cerebrales relacionadas con la depresión. Esta idea fue demostrada por Kenny et al. (2001) con la administración sistémica y con dosis similares a las que nosotros utilizamos (0.5 mg/kg) y similares a su vez a las obtenidas en fumadores (Benwell et al, 1990). Dicho tratamiento incrementa la expresión del RNAm para el receptor 5-HT_{1A} en la corteza, el giro dentado y las regiones CA3 Y CA1 del hipocampo dorsal luego de 2 y 24 horas después de la inyección. Estos resultados sugieren que la nicotina puede regular la transmisión serotoninérgica modulando la expresión del gen para el receptor 5-HT_{1A} (Ribeiro et al, 1993; Kenny et al, 2001). Los autores proponen que el incremento en la expresión del receptor 5-HT_{1A} observado en el hipocampo dorsal y en la corteza luego del tratamiento agudo, es debido a que la nicotina evoca la liberación de serotonina y por ello estimula a los receptores postsinápticos 5-HT_{1A} situados en estas estructuras. De acuerdo a ello, la administración sistémica del agonista del receptor 5-HT_{1A}, 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralina (8-OH-DPAT), induce un incremento significativo de la expresión del gene del receptor 5-HT_{1A} en los núcleos del rafé dorsal y medio en ratas 0.5 y 8 horas después de la inyección, respectivamente (Razani et al, 1997). Además, también se ha demostrado *in vitro* que el tratamiento con el agonista exógeno, 8-OH-DPAT, incrementa la expresión del RNAm para el receptor 5-HT_{1A} (Cowen et al, 1997). Diversos tratamientos con efectos antidepresivos en humanos producen un aumento de la tasa de disparo de las neuronas en los núcleos septales que reciben influencia inhibitoria del hipocampo y además están relacionados anatómicamente y funcionalmente con los núcleos del rafé. Todos estos hallazgos resultan de interés, dado que estas porciones del cerebro son las encargadas del procesamiento emocional con componentes afectivos, es decir, en las ideas o sentimientos de culpa, de falta de autoestima, de desesperanza y en las alteraciones de

memoria, característicos de la depresión (Zandio et al, 2002). Una característica primaria en los pacientes con depresión es la anhedonia que se define como la incapacidad para experimentar placer. La nicotina también podría promover la actividad de estructuras cerebrales relacionadas al placer.

Estos datos podrían explicar los efectos antidepresivos de la nicotina reflejados en la disminución inmediata de la inmovilidad y el incremento en la conducta de nado luego del tratamiento agudo con nicotina observado en el presente trabajo. Sin embargo, son necesarios más estudios para demostrar directamente esta hipótesis; por ejemplo, probar si los efectos de la nicotina sobre la prueba de nado forzado pueden ser bloqueados por antagonistas selectivos del receptor, probablemente postsináptico, 5-HT_{1A} (p.e. NAN 190, BMY7378 o pindolol) como ha sido demostrado con la PNF para el 8-OH-DPAT y para fármacos antidepresivos como buspirona, desipramina (Detke et al, 1995b) y gepirona (Chojnacka-Wojcik et al, 1991). El efecto modulador de la nicotina sobre el receptor 5-HT_{1A} en regiones corticales y límbicas es de relevancia clínica por el importante papel de estos receptores en la ansiedad y enfermedades relacionadas con la depresión (Blair y Ward, 2003; Haddjeri et al, 1998; Heisler et al, 1998; Parks et al, 1998; Ramboz et al, 1998). También se ha determinado el aumento en la liberación de serotonina luego de la administración de nicotina en otras estructuras relacionadas con la depresión como el hipotálamo, hipocampo, corteza, estriado y septum lateral (Balfour y Ridley, 2000; Miyata et al, 1999; Quattrocki et al, 2000; Ribeiro et al, 1993; Summers y Giacobini, 1995; Takada et al, 1995; Takahashi et al, 1998; Yang et al, 1999; Yu y Wecker, 1994; Kenny et al, 2000b; 2001), algunas de ellas con altos niveles de receptores 5-HT_{1A} (Pompeiano et al, 1992). La mayoría de estas estructuras forman parte del sistema colinérgico septo-hipocampal que ha sido implicado en el control de la depresión (Gray, 1988). Así, por ejemplo, los déficits asociados con el desamparo aprendido son prevenidos por lesiones en el hipocampo (Elmes et al, 1975) y el septum ventromedial (Kelsey y Baker, 1983). Lo que sugiere que las proyecciones del hipocampo a la amígdala pueden estar involucradas en la formación de la memoria emocional asociada con el shock inducido por el desamparo aprendido. La nicotina podría así producir sus efectos antidepresivos en la prueba de nado forzado actuando directamente sobre el hipocampo y/o el septum a través de las proyecciones a la amígdala. Recientemente se ha demostrado que la administración aguda de nicotina incrementa la expresión de c-fos, un índice de activación neuronal, en el hipocampo y el septum lateral (Mathieu-Kia et al, 1998), sugiriendo que

estas estructuras límbicas, podrían activarse y mediar los efectos antidepresivos de la nicotina.

En hipotálamo se encuentra una ligera concentración de sitios de unión a nicotina además de encontrarse subunidades $\alpha 4$ y $\beta 2$ en ligera concentración. Mientras que en hipocampo se encuentra una ligera concentración de sitios de unión a nicotina además de encontrarse subunidades $\alpha 7$ y $\beta 2$ en fuerte y moderada concentración respectivamente y ligera de subunidades $\alpha 3$, 4 y 5 y $\beta 4$. Por otro lado, corteza muestra altas concentraciones de sitios de unión a nicotina además de encontrarse subunidades $\alpha 4$ y $\beta 2$ en moderada concentración y ligera de subunidades $\alpha 3$, 5 y 7.

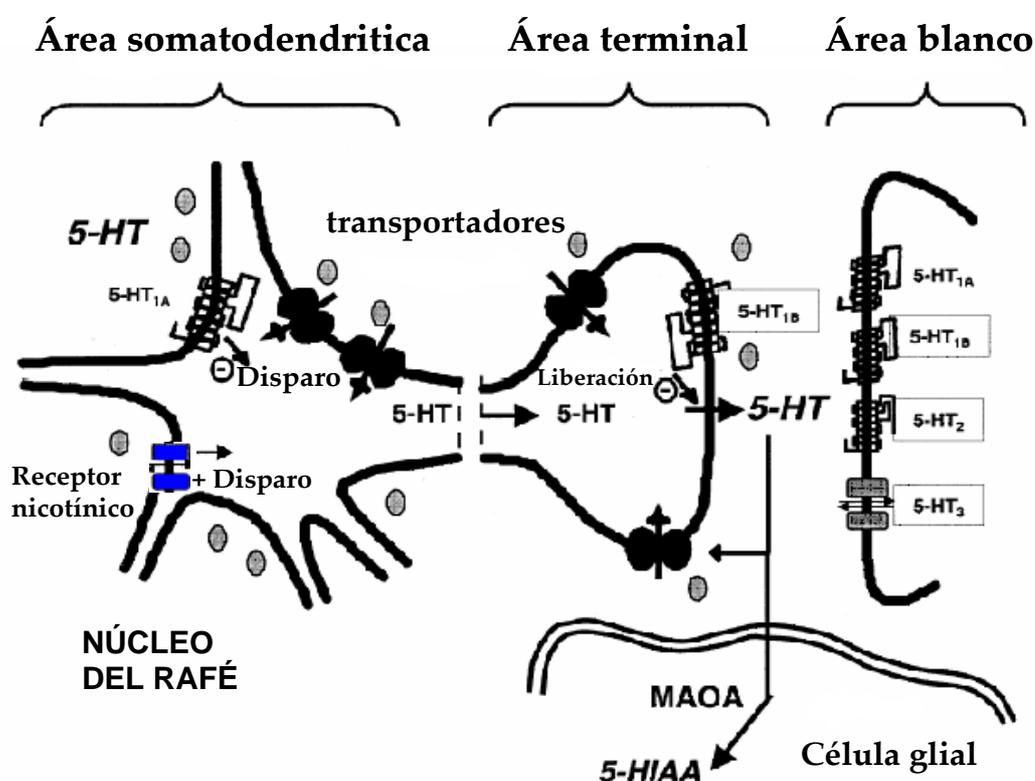


Fig. G. Posible mecanismo que media el efecto como antidepresivo de la nicotina. La nicotina se une a receptores nicotínicos somatodendríticos en el núcleo del raquí incrementando la liberación de serotonina. Este incremento agudo disminuye el sueño MOR e incrementa la vigilia. Además, activa un mecanismo de regulación a través de receptores 5-HT_{1A} que inhibe la frecuencia de disparo, la síntesis y liberación de serotonina. El tratamiento subcrónico y crónico desensibiliza al receptor 5-HT_{1A} y posiblemente al 5-HT_{1B} en el área terminal, permitiendo la síntesis y liberación continua de serotonina. Este efecto reduce la conducta de inmovilidad e incrementa la conducta de nado en la PNF e inhibe también el sueño MOR e incrementa vigilia.

Por otra parte el estriado muestra moderada cantidad de sitios de unión a nicotina y solo ligeras cantidades de subunidades $\beta 2$. Otro sitio importante para la depresión además de los anteriores, es el locus coeruleus. Este núcleo noradrenérgico tiene importante cantidad de sitios de unión a nicotina y subunidades $\alpha 6$ y $\beta 3$ aunque también existen subunidades $\alpha 3$, $\beta 2$ y $\beta 4$ en cantidades moderadas (Para revisión: Paterson y Nordberg, 2000). De acuerdo con la teoría monoaminérgica, la depresión es causada por un déficit en la liberación de dopamina y/o serotonina y/o noradrenalina en el cerebro, lo cual induce los característicos déficits afectivos, cognitivos y conductuales. Por lo que respecta al sistema serotoninérgico, este juega un papel clave en los procesos del sistema nervioso central que parecen estar desregulados en los desordenes psiquiátricos como la depresión. Estos procesos incluyen: estados afectivos internos como la ansiedad, el temor, la depresión, la agresión, el control del sueño y la modulación de conductas de ingesta de alimento e influye en circuitos que median la motivación, los estados hedónicos y los efectos de drogas de abuso (para revisión: Gingrich y Hen, 2001). Este conocimiento ha permitido que el sistema serotoninérgico sea un blanco para la medicación y el tratamiento de muchos desordenes psiquiátricos. A pesar de ello, su complejidad ha sido un obstáculo para acceder a este conocimiento con todo el éxito que se esperaba. Su complejidad involucra al menos a 14 diferentes receptores que responden a la serotonina, así como múltiples enzimas y proteínas que influyen en su metabolismo y liberación.

En general, todos estos datos proporcionan sustento teórico para explicar los efectos como antidepressivo de la nicotina en la PNF, mediados posiblemente por el sistema serotoninérgico.

EFFECTOS DE LA NICOTINA, FLUOXETINA Y LA COMBINACIÓN DE AMBOS SOBRE EL PATRÓN DE SUEÑO

Los tres tratamientos (NIC, FLX y F+N) inducen un incremento significativo de la vigilia a costa de un decremento del SOL II y del SMOR desde el primer día de tratamiento y en consecuencia, disminuyen significativamente la eficiencia de sueño sin afectar al SOL I con el tratamiento agudo, subcrónico y crónico tanto para animales intactos como para las ratas CLI. Un efecto reiterativo en todos los casos, y que cabe subrayar, es el efecto virtualmente supresor del sueño MOR cuyo significado en relación a la depresión se discutirá más adelante.

Los medicamentos antidepressivos producen cambios característicos en el registro de sueño de pacientes deprimidos y en controles normales. Nuestros resultados relacionados con los efectos de la fluoxetina sobre el patrón de sueño son similares a los

observados en voluntarios sanos, en pacientes deprimidos y en estudios en animales. La administración aguda de fluoxetina en voluntarios sanos disminuye el tiempo de sueño MOR, el tiempo de sueño total y la eficiencia de sueño mientras que incrementa la vigilia y la etapa 1 (Saletu et al, 1991). Mientras que el tratamiento semicrónico (6 días) disminuye significativamente el sueño MOR incrementando la latencia de sueño y de sueño MOR, pero no la cantidad de vigilia durante la noche (Vasar et al, 1994). Por otro lado, la administración aguda (60 mg) en pacientes con depresión disminuye la cantidad de sueño MOR y altera la continuidad de sueño relacionado potencialmente con la dosis, incrementando el número de despertares y de activaciones sin interferir con la respuesta terapéutica (Kerkhofs et al, 1990). Este efecto es muy similar luego de 2, 4 y 8 semanas de tratamiento con fluoxetina (20 mg/día), en donde se observa un decremento significativo en la eficiencia de sueño y el sueño MOR y un incremento en el número de despertares, del Estado 1 de sueño y de la latencia de sueño MOR comparados con la línea base antes del tratamiento (Gillin et al, 1997). Otro estudio en el que se investigó el efecto de la fluoxetina luego de 1, 5 y 10 semanas asoció la respuesta al tratamiento con significativo incremento en la latencia de sueño MOR, de la etapa 1 y de la densidad de movimientos oculares, así como un decremento significativo en la eficiencia de sueño, el sueño MOR total y del estado 2 (Trivedi et al, 1999). En animales se ha observado que la fluoxetina inhibe el sueño MOR luego de su administración aguda (Slater et al, 1978; Pastel y Fernström, 1987). Efecto que se cree es inducido por un incremento en la transmisión serotoninérgica como consecuencia del bloqueo de la recaptura del neurotransmisor y de su persistencia en el espacio sináptico. Cuando la fluoxetina u otros inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina menos específicos son administrados, ocurre un rápido decremento en la liberación de serotonina y en la tasa de disparo del área del rafe rica en serotonina. Estos efectos pueden ser un mecanismo homeostático compensatorio en respuesta al incremento de la acción de la serotonina sobre los receptores sinápticos. Lo que además induce la desensibilización de los receptores presinápticos, posiblemente 5-HT_{1A}, que regulan tanto la síntesis como la liberación de serotonina (Fuller y Wong, 1977). Por otro lado, la microinyección de fluoxetina en el tálamo intralaminar centromedial suprime el tiempo total y el número de episodios de sueño paradójico, incrementando el tiempo de SOL sin alcanzar significancia estadística, sugiriendo que esta región podría ser importante en mediar los efectos de la fluoxetina sobre el sueño (Tsai y Tsai, 1993).

Por lo que respecta a estudios en modelos animales de depresión, se ha demostrado que la microinyección cerebro-ventricular aguda de yohimbina (antagonista α_2 adrenérgico) y de meta-clorofenil-piperazina (mCPP; agonista serotoninérgico inespecífico) en las ratas CLI, reducen significativamente la duración total y el número de episodios de sueño MOR e incrementa su latencia de inicio comparados con los controles salinos. (Mavanji y Datta, 2002a; 2002b). Mientras que la atropina (antagonista colinérgico muscarínico) y la mianserina (antidepresivo atípico) reducen significativamente la duración y el número de episodios de sueño MOR sin modificar su latencia (Mavanji y Datta, 2002a; 2002b). Los autores sugieren que la administración aguda de MCPP y mianserina podrían actuar como antidepresivos y que el incremento y decremento de la actividad noradrenérgica y colinérgica respectivamente, podría atenuar las alteraciones del sueño MOR observadas en este modelo animal de depresión. En este mismo modelo, nosotros observamos efectos en la misma dirección al administrar vía subcutánea, aguda, subcrónica y crónicamente fluoxetina, los cuales suprimen el sueño MOR de manera similar a lo observado tanto en voluntarios sanos (Saletu et al, 1991; Vasar et al, 1994), como para el tratamiento agudo, subcrónico y crónico en pacientes deprimidos (Kerkhofs et al, 1990; Gillin et al, 1997), que corresponderían, respectivamente, a las ratas intactas y a las ratas CLI, nuestro modelo animal de depresión.

Por otro lado, el papel de la nicotina y de los receptores nicotínicos sobre el sueño es controversial. Estudios pioneros no detectaron efectos de la nicotina sobre el sueño (George et al, 1964). En contraste la administración intravenosa (Domino y Yamamoto, 1965), subcutánea (Jewet y Norton, 1966) o en la formación reticular pontina (FRP) (Velazquez-Moctezuma et al, 1990) incrementan el sueño MOR en gatos. Del mismo modo, estudios en humanos han producido resultados inconsistentes. Sin embargo, nuestros datos son consistentes con los obtenidos por Gillin et al. (1994), quienes reportaron que la administración transdérmica aguda induce un decremento dosis-dependiente de sueño MOR y un incremento en la vigilia en voluntarios normales (Gillin et al, 1994). Estudios en animales, con dosis de nicotina similares a las utilizadas en el presente trabajo (0.5 mg), muestran que la nicotina disminuye el sueño MOR luego de su administración aguda y luego de cuatro días continuos de administración a costa de un incremento en la vigilia (Salín-Pascual et al, 1999). Estos efectos son bloqueados por el antagonista nicotínico mecamilamina lo que indica que los efectos de la nicotina sobre el sueño son mediados por receptores nicotínicos (Salín-Pascual et al, 1999). Nuestros resultados en la rata intacta son semejantes luego de la administración subcutánea aguda

de nicotina. Sin embargo, estos efectos no son observados luego de la administración repetida de dosis bajas (0.1 mg/kg), las cuales producen un incremento en el sueño MOR (Salín-Pascual et al, 1999). Estas diferencias pueden relacionarse con algún tipo de facilitación de los mecanismos colinérgicos relacionados con el sueño MOR, posiblemente por un incremento en la liberación de acetilcolina debida a la estimulación de receptores presinápticos (Iwamoto, 1989; Datta et al, 1991). Recién se evaluó la participación de los receptores nicotínicos que contienen la subunidad β_2 , el componente más importante en los sitios de unión de alta afinidad en el cerebro (Whiting y Lindstrom, 1986), sobre el patrón de sueño utilizando ratones knock-out que carecen del gen para esta subunidad. La administración de nicotina (1-2 mg/kg, ip) incrementa la vigilia en los animales controles pero no en los knock-out (Lena et al, 2004). En condiciones normales, el ratón knock-out para β_2 despliega la misma cantidad de vigilia, sueño de ondas lentas y sueño MOR que su contraparte control. Sin embargo, muestran episodios de sueño MOR más largos y menos activaciones relacionadas, pero no causadas, por irregularidades respiratorias (Lena, 2004). Los autores sugieren que los receptores nicotínicos que contienen a la subunidad β_2 contribuyen a la organización del sueño regulando el inicio y la duración del sueño MOR y mediando además, las propiedades activadoras de la nicotina (Lena, 2004). Dilucidar con certeza el papel del sistema nicotínico en el sueño, como ha sido el caso de otros sistemas de neurotransmisión, implica a futuro, la utilización de fármacos nicotínicos más específicos para cada tipo de receptor e inclusive para cada subunidad, así como profundizar en el estudio de otros ratones knock-out para otros receptores nicotínicos e inclusive para sus subunidades, con el fin de determinar su participación en este fenómeno.

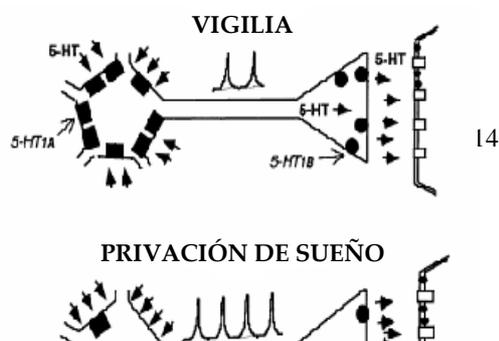
Un efecto importante de la nicotina sobre el sistema nervioso central es su capacidad para modular los niveles de activación (Frith, 1967). En animales, la nicotina afecta los circuitos neuronales del tallo cerebral y produce cambios en el electroencefalograma (EEG). La nicotina inyectada intravenosamente causa cambios en el EEG de gatos indicativos de actividad cortical (Armitage et al, 1968). Durante el sueño de 8 estudiantes varones que fueron inyectados con nicotina o solución salina antes de irse a dormir, se reveló un incremento en la actividad cardíaca (Domino et al, 1967). Kales et al. (1970) encontraron que sus siete sujetos tenían más sueño MOR después de dejar de fumar que cuando fumaban. Ulett y Itil (1969) estudiaron el EEG a 8 fumadores pesados (más de 24 cigarrillos diarios) que dejaron de fumar durante 24 h, evaluando 3 registros: antes de dejar de fumar, después de 24 horas sin fumar y después de que

fumaron dos cigarrillos. Los cambios en el EEG durante el abandono del cigarrillo mostraron un incremento de la actividad de ondas lentas, típico de una disminución de la activación. Estas anomalías fueron acompañadas por síntomas conductuales de somnolencia, inquietud y distrofia, los cuales fueron revertidos cuando se reasumió el hábito de fumar. Diversos estudios han determinado que fumar incrementa la atención, mejora la ejecución de tareas y la memoria de trabajo (Newhouse et al, 1986; Speelman y Goldman, 1982; Ver revisión: Levin, 2002) sugiriendo como un factor importante que la nicotina produce activación (Warburton et al, 1986). La activación conductual en humanos puede reflejarse en la actividad del EEG (Jarvik et al, 1979), incremento en el flujo sanguíneo cerebral e incremento en la utilización de glucosa por estimulación de nAChRs en el cerebro anterior basal, efectos que pueden bloquearse con el antagonista nicotínico mecamilamina (Linville et al, 1993). En humanos, la nicotina incrementa la activación, la atención visual y la percepción pero también disminuye el tiempo de reacción, y previene el declive temporal en la eficiencia (Para revisión: Paterson y Norberg, 2000). Se ha sugerido que el hábito de fumar puede mejorar la ejecución de tareas como consecuencia de una reducción de la fatiga, la somnolencia o el estrés, efectos que podrían ser mediados por la nicotina (Miller, 1973). En estudios pioneros sobre los efectos de la fatiga sobre el conducir, muchos automovilistas informan que ellos fuman para incrementar su alertamiento y mantener un alto nivel de ejecución (Heimstra et al, 1967). Estos efectos activadores pueden sustentarse en el hecho de que la administración sistémica de nicotina incrementa la liberación no solo de serotonina sino también de noradrenalina, dopamina y acetilcolina (Wonnacut, 2001). Los cuales han sido relacionados con el mantenimiento de la vigilia (Adrien, 1995; Wauquier, 1995). Así, las acciones de la nicotina cuando se administra en la FRP pueden inducir la liberación de acetilcolina a través de la activación de autoreceptores y, en consecuencia, incrementar el tiempo de sueño MOR.

Por otra parte, el hecho de que la privación total y parcial del sueño, la privación selectiva de sueño MOR y el adelanto del ciclo de sueño-vigilia pueden tener efectos beneficiosos en la sintomatología depresiva (Para revisión: Cano-Lozano, 2003), sugiere una conexión entre la regulación del sueño y el afecto en los trastornos del estado de ánimo (Rush et al, 1991; Armitage, 2000). En este sentido, existe amplia evidencia empírica que muestra una clara e inmediata supresión del sueño MOR con la mayoría de los fármacos antidepresivos (p.e. los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina: fluoxetina, sertralina, paroxetina, zimelidina y los antidepresivos tricíclicos: clomipramina,

imipramina, nortriptilina, amitriptilina)(Vogel et al, 1975; Armitage, 2000). Otro tipo de tratamientos antidepresivos, como el tratamiento con inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO), litio y la terapia electroconvulsiva, también han mostrado su capacidad para suprimir el sueño MOR (Berger y Riemann, 1993). Existen, sin embargo, algunas excepciones documentadas en varios estudios con bupropión, dotiepina, trimipramina, moclobemida, nefazodona y ritanserina (Sandor y Shapiro, 1994; Armitage, 2000). Sin embargo, el efecto supresor de la nicotina sobre el sueño MOR observado en el presente trabajo es un dato indicativo de sus posibilidades como antidepresivo. Basado en la hipótesis de que la supresión del sueño MOR sea un prerequisite necesario para alcanzar el efecto depresivo, se ha sugerido que esta supresión al inicio del tratamiento antidepresivo podría predecir el resultado terapéutico (Kupfer et al, 1987; Berger y Riemann, 1993). Esta hipótesis ha sido confirmada en varios estudios (Gillin et al, 1978; Kupfer et al, 1976; Reynolds et al, 1991) incluyendo el presente.

Así como los efectos antidepresivos de la fluoxetina y de la nicotina involucran la activación del sistema serotoninérgico y la disminución del sueño MOR. Los efectos antidepresivos de la privación de sueño también podrían estar asociados, al menos parcialmente, con modificaciones en la función serotoninérgica (Ver: figura G). Así, la privación de sueño en animales de laboratorio incrementa la concentración de serotonina (Asikainen et al, 1995), incrementa la concentración de 5-hidroxiindolacetico, el principal metabolito de la serotonina, durante el periodo de recuperación (Borbély et al, 1980), incrementa la tasa de disparo de las neuronas serotoninérgicas en el núcleo dorsal del raquí (Gardner et al, 1997) y muestra regulación hacia la baja (downregulation) de los autoreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} (Prevot et al, 1996). La privación selectiva de sueño MOR aumenta la respuesta conductual a la estimulación serotoninérgica (Mogilnicka, 1981), disminuye la sensibilidad de los autoreceptores 5-HT_{1A} del núcleo dorsal del raquí en las ratas CLI(Maudhuit et al, 1996), y disminuye la actividad de las monoaminooxidasa centrales (Thakkar y Malick, 1993). En humanos sanos, la privación de sueño también modifica algunas medidas de la actividad serotoninérgica central (Benedetti et al, 1997; Seifritz et al, 1997). Además, la secreción de prolactina inducida por 5-HT en humanos, es incrementada después de la privación de sueño (Salomon et al, 1994) y puede predecir la respuesta clínica a la misma en pacientes deprimidos (Kasper et al, 1988).



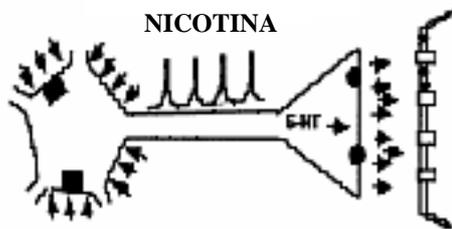


Figura H. Efecto de la nicotina sobre el sistema serotoninérgico. Es posible que tanto la nicotina como la privación de sueño y los fármacos antidepresivos compartan un mecanismo antidepresivo común cuyas diferencias tengan que ver únicamente con la manera en que cada uno de ellos induce la liberación de serotonina en el espacio sináptico. Mientras la nicotina activa receptores nicotínicos presinápticos, los antidepresivos inhiben la función del transportador y la privación de sueño corrige el desequilibrio acetilcolina-monoaminas, el efecto final es en todos los casos es una mayor activación del sistema serotoninérgico (mayor tasa de disparo) y posiblemente noradrenérgico, una mayor liberación del neurotransmisor, activación y posterior desensibilización de receptores 5-HT_{1A}, y posiblemente 1B, y mantenimiento continuo de la síntesis y liberación del neurotransmisor. Este efecto aumenta la vigilia (activación), suprime el sueño MOR y mantiene el efecto antidepresivo crónico.

Existen varias propuestas teóricas para explicar las alteraciones del sueño asociadas a la depresión. Se ha sugerido que la regulación del ciclo sueño-vigilia es controlado por un balance entre el sistema colinérgico y aminérgico (p.e. serotonina) (Jones, 1991). La depresión ha sido relacionada con ambos, acetilcolina y serotonina (Rush et al, 1991). Una de las más reconocidas y mejor sustentadas teorías es la propuesta de interacción recíproca de Hobson et al. (1975). Basándose en experimentos con animales demostraron que el ciclo ultradiano MOR-no MOR se considera gobernado por la interacción recíproca entre neuronas colinérgicas, activadoras del sueño MOR (MOR-on) y neuronas aminérgicas inhibitoras del sueño MOR (MOR-off). La relevancia de este modelo para una teoría etiológica y patofisiológica de la depresión se basa en

estudios que demuestran que los centros neuronales en la regulación del sueño MOR están vinculados con áreas cerebrales superiores. De acuerdo con esto, la desregulación del sueño MOR puede servir como ventana para conocer los procesos neuroquímicos envueltos en la regulación del estado de ánimo (Riemann et al, 2001). Un aspecto de interés del modelo es que puede vincularse fácilmente con otras aproximaciones psicobiológicas de la depresión. Ya en 1972, Janowsky et al. formularon su modelo del desequilibrio colinérgico-aminérgico en los trastornos del estado de ánimo, que implicaba una elevada actividad colinérgica central en la patogénesis de la depresión. Compatible con este modelo, todas las intervenciones terapéuticas que supriman el sueño MOR, como la administración de nicotina y fluoxetina, y en consecuencia, corrijan el desequilibrio asumido, pueden actuar antidepressivamente.

McCarley sugirió un punto de vista integrador de la hipótesis del desequilibrio y el modelo de la interacción recíproca de la regulación del sueño MOR (McCarley, 1990; McCarley et al, 1995). Propone la conceptualización de sistemas de control comunes para el sueño REM y el estado de ánimo; es el balance relativo entre el sistema monoaminérgico, particularmente en forma de una disminución en la tasa de disparo de las neuronas del núcleo del rafé, y el sistema colinérgico, lo que determina los correlatos biológicos y subjetivos de alteraciones del estado de ánimo, pero en particular sobre la regulación del sueño MOR, jugando un papel permisivo en “desinhibir” los circuitos PPT/LDT y con ello los los circuitos sinápticos colinérgicos que orquestan al sueño MOR (Steriade y McCarley, 1990; Steriade et al, 1993). Una de las implicaciones más importantes de este modelo es que sugiere que hay varios tipos de depresión, lo que está de acuerdo con datos clínicos recientes. Algunos tipos pueden relacionarse con la deficiencia en la acción monoaminérgica, mientras que otros pueden reflejar un deterioro en el funcionamiento del sistema colinérgico y otros pueden resultar de una combinación de factores. Nuestros resultados confirman esta propuesta teórica, al mostrar que la activación del sistema serotoninérgico en las ratas intactas, inducida por la administración de fluoxetina, nicotina y su combinación, puede alterar el equilibrio relativo entre el sistema monoaminérgico y el colinérgico, lo que podría inhibir los circuitos colinérgicos PPT/LDT y con ello disminuir o suprimir el sueño MOR.

Por otro lado, la disminución en la actividad serotoninérgica observada en las ratas CLI (Maudhuit et al, 1996; Yavari et al, 1993), podría “desinhibir” los circuitos PPT/LDT colinérgicos y con ello promover el incremento del sueño MOR *per se* observado en este modelo animal de depresión (Vogel et al, 1990). Recientemente se ha demostrado que las

ratas CLI muestran una mayor actividad acetilcolinesterasa en áreas cerebrales específicas (hipocampo y corteza frontal) pero no en otras como el hipotálamo, el septum y el tallo cerebral (Mavanji y Datta, 2002b). Estos datos sugieren que el incremento en la actividad del sistema colinérgico podría estar involucrada en las alteraciones del sueño MOR y en otras alteraciones conductuales observadas en las ratas CLI. Por otra parte, de manera similar a las ratas intactas, el incremento en la actividad serotoninérgica en las ratas CLI, inducida por la administración de fluoxetina, nicotina y su combinación, podría alterar el equilibrio relativo entre el sistema monoaminérgico y el colinérgico, inhibiendo en consecuencia los circuitos colinérgicos PPT/LDT e induciendo, como resultado, la disminución o supresión del sueño MOR, como se observa en nuestros resultados sobre la arquitectura del sueño. Esta idea también es apoyada por el hecho de que las neuronas monoaminérgicas del locus ceruleus noradrenérgico y el núcleo dorsal del rafé serotoninérgico y del núcleo tuberomamilar histaminérgico muestran un patrón de descarga opuesto al de las neuronas LDT/PPT colinérgicas; actividad que es máxima durante la vigilia, declina durante el sueño de ondas lentas y cesa virtualmente antes y durante el sueño MOR para ambos, el núcleo del rafé dorsal (McGinty y Harper, 1976; Jacobs y Fornal, 1991), el locus coeruleus (Hobson et al, 1975; Foote et al, 1983) y núcleo tuberomamilar histaminérgico (Spiegel et al, 1999). Este patrón se correlaciona positivamente con la evaluación de las concentraciones de serotonina en PPT. Así, los niveles extracelulares de serotonina en PPT son mayores durante los periodos de vigilia, menor durante el sueño de ondas lentas y mínimos durante los periodos de sueño MOR (Strecker et al, 1999). Esta correlación inversa con el sueño MOR a llevado sugerir que la actividad noradrenérgica (McCarley y Hobson, 1975) y serotoninérgica (McGinty y Harper, 1976) podría suprimir al sueño MOR, mientras que el decline en su actividad liberaría a las neuronas colinérgicas promotoras del sueño MOR de la inhibición serotoninérgica, lo cual, a su vez, permitiría el incremento en la liberación de acetilcolina en áreas terminales, facilitando la aparición del sueño MOR. Además, se sabe que las neuronas serotoninérgicas proyectan al LDT/PPT (Semba y Fibinger, 1992; Steininger et al, 1997) y estudios *in vitro* han revelado que un subgrupo de neuronas colinérgicas mesopontinas es inhibido por la serotonina a través de receptores 5-HT_{1A} (Muhlethaler et al, 1990; Leonard y Llinas, 1994). También se ha observado que la inhibición de la actividad serotoninérgica del NRD por el agonista específico 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, incrementa el sueño MOR (Portas et al, 1996). Finalmente, la microinyección de 8-OH-DPAT en LDT o en PPT disminuye el sueño MOR (Horner et al, 1997; Sanford et al, 1994;

Thakkar et al, 1998). Un resultado reiterativo de todos estos estudios, incluido el nuestro, es que el incremento en la actividad serotoninérgica produce un incremento en la vigilia, mientras que las manipulaciones que disminuyen la actividad serotoninérgica incrementan la cantidad de sueño MOR, tal y como observamos en el presente estudio con la administración de fluoxetina y sugestivamente con la administración de nicotina y la coadministración de ambos fármacos, además de lo observado en las ratas CLI *per se* y su respuesta ante los diferentes tratamientos.

13 CONCLUSIONES

De acuerdo a nuestros resultados en la PNF y en la evaluación del ciclo sueño vigilia podemos concluir que:

El modelo animal de depresión inducido por la administración neonatal de clomipramina (ratas CLI), es un modelo viable para el estudio de la etiología de la depresión, de los mecanismos neurofarmacológicos a través de los cuales los antidepresivos inducen sus efectos y de la investigación de nuevos tratamientos fármacológicos para la depresión.

1. La administración de nicotina tiene efectos antidepresivos agudos, subcrónicos y crónicos.
2. Los efectos antidepresivos de la nicotina pueden estar mediados por el sistema serotoninérgico.
3. Los efectos antidepresivos agudos sugieren a la nicotina como antidepresivo de acción rápida.
4. La administración de nicotina disminuye el sueño MOR de manera similar al efecto de la mayoría de los fármacos antidepresivos.
5. La administración de fluoxetina, antidepresivo ampliamente reconocido, tiene efectos antidepresivos subcrónica y crónicamente de manera similar a lo observado en el tratamiento de sujetos que padecen depresión.
6. La administración de fluoxetina disminuye el sueño MOR de manera similar a lo observado en humanos sanos y enfermos depresivos.
7. La administración conjunta de fluoxetina y nicotina no altera los efectos antidepresivos individuales de los dos fármacos, lo que sugiere que su coadministración podría disminuir la latencia antidepresiva de la fluoxetina, por acción de la nicotina, incrementando la adherencia terapéutica del paciente depresivo.

REFERENCIAS

- Achermann P.** The two-process model of sleep regulation revisited. *Aviat Space Environ Med* (3 Suppl):A37-43, 2004.
- Adrien J.** The serotonergic system and sleep-wakefulness regulation. In: Kales A (Ed)

The pharmacology of sleep. Springer, Berlin pp 65-90, 1995.

Akiskal HS. Mood disorders: introduction and overview. In: Kaplan HI, Sadock BJ, eds. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. 6th ed. Baltimore, Md: Lippincott, Williams & Wilkins. Pp 1067-1079, 1995.

Alam MN, Mallick BN. Differential influence of medial and lateral preoptic areas on body temperature in conscious and unconscious rats. *Brain Res* 566: (1-2): 303-307, 1991.

Alam MN, McGinty D, Szymusiak H. Preoptic/anterior hypothalamic neurons: thermosensitivity in rapid eye movement sleep. *Am J Physiol* 269: 1250-1257, 1995.

Alkondon M, Albuquerque E. Diversity of nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal neurons: I. Pharmacological and functional evidence for distinct structural subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 265: 1455-1473, 1993.

American Psychiatric Association. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales-Texto revisado (DSM-IV-TR). Tomo II Ed. Masson Doyma, México, D.F., 2003. Pp 387-427, 667-669.

Anand KJ, Scalzo FM. Can adverse neonatal experiences alter brain development and subsequent behavior? *Biol Neonate*. 77(2): 69-82, 2000.

Arieti S, Bemporad J. The psychological organization of depression. *Am J Psychol* 137: 1360-1365, 1980.

Armitage AK, Hall GH, Morrison CF. Pharmacological basis for the smoking habit. *Nature* 217(126): 331-334, 1968.

Armitage R. Microarchitectural findings in sleep EEG in depression: diagnostic implications. *Biol Psychiatry* 37:72-84, 1995.

Armitage R. Effects of antidepressant treatment on sleep EEG in depression. *J Psychopharmacology* 10: 22-25, 1996.

Armitage R. The effects of antidepressants on sleep in patients with depression. *Canadian J Psychiatry* 45(9): 803-810, 2000.

Armitage R, Emslie G, Rintelman J. The effect of fluoxetine on sleep EEG in childhood depression: a preliminary report. *Neuropsychopharmacology* 17: 241-245, 1997.

Armitage R, Hoffmann R. Sleep electrophysiology of major depressive disorders. *Curr Rev Mood Anxiety Disord* 1: 139-151, 1997.

Armitage R, Rush AJ, Trivedi M, Cain J, Roffwarg HP. The effects of nefazodone on

sleep Architecture in depression. *Neuropsychopharmacology* 10: 123-127, 1994.

Armitage R, Sussman N. Effects of fluoxetine on sleep architecture and quality of sleep in depressed patients. *Primary Psychiatry* 4: 34-37, 1997.

Armitage R, Trivedi M, Rush AJ. Fluoxetine and oculomotor activity during sleep in depressed patients. *Neuropsychopharmacology* 12: 159-165, 1995.

Armitage R, Yonkers K, Cole D, Rush AJ. A multicenter, double-blind comparison of the effects of nefazodone and fluoxetine on sleep architecture and quality of sleep in depressed outpatients. *J Clin Psychopharmacol* 17: 161-168, 1997.

Arneric SP, Sullivan JP, Briggs CA, Roberts DD, Anderson DJ, Raszkievicz JL, Hughes M, Cadman E, Adams P, Garvey DS, Wasicak J, Williams M. ABT-418: A novel cholinergic ligand with cognition enhancing and anxiolytic activity. I. In vitro activity. *J Pharmacol Exp Ther*, 270: 310-318, 1994.

Arnold B, Allison K, Ivanova S, Paetsch PR, Paslawski T, Greenshaw AJ. 5-HT₃ receptor antagonists do not block nicotine-induced hyperactivity in rats. *Psycho-pharmacology* 119:213-221, 1995.

Asala SA, Okano Y, Honda K, Inoue E. Effects of medial preoptic area lesions on sleep and wakefulness in unrestrained rats. *Neurosci Lett* 114(3): 300-304, 1990.

Aserinsky E, Kleitman N. Regulatory occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science* 11: 273-274, 1953.

Asikainen M, Deboer T, Porkka-heiskanen, Stenberg D, Tobler I. Sleep deprivation increases brain serotonin turnover in the Djungarian hamster. *Neurosci Lett* 198: 21-24, 1995.

Ator NA, Griffiths RR. Nicotine self-administration in baboons. *Pharmacol Biochem Behav* 19(6): 993-1003, 1983.

Baghdoyan HA. Location and quantification of muscarinic receptor subtypes in rat pons: implications for REM sleep generation. *Amer J Physiol-Regul Integr Comp* 42(3): R896-R904, 1997.

Baghdoyan H, Lydic R, Callaway CW, Hobson A. The carbAChol-induced enhancement of desynchronized sleep signs is dose dependent and antagonized by centrally administered atropine. *Neuropsychopharmacol* 2: 67-79, 1989.

- Baghdoyan H, McCarley R, Hobson A.** Cholinergic manipulation of brainstem reticular system: effects on desynchronized sleep generation. En: Wauquier A, Monti J, Gailliard M & Radulovacki M (Eds) *Sleep, neurotransmitters and neuromodulators*. Raven Press, New York, 1985. Pp 15-28.
- Baghdoyan H, Rodrigo-Angulo M, McCarley R, Hobson A.** A neuroanatomical gradient in pontine tegmentum for the cholinergic induction of desynchronized sleep signs. *Brain Res* 414: 245-261, 1987.
- Balfour DJ, Ridley DL.** The effects of nicotine on neural pathways implicated in depression: a factor in nicotine addiction? *Pharmacol Biochem Behav* 66(1): 79-85, 2000.
- Balfour DJK, Fagerström KO.** Pharmacology of nicotine and its therapeutic use in smoking cessation and neurodegenerative disorders. *Pharmacol Ther* 72: 51-81, 1996.
- Barnes NM, Costall B, Kelly ME, Onaivi ES, Naylor RJ.** Ketotifen and its analogues reduce aversive responding in the rodent. *Pharmacol Biochem Behav* 37: 785-793, 1990.
- Barnes NM, Sharp T.** A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38: 1083-1152, 1999.
- Baumeister AF.** Suicide as escape from the self. *Psychological Bull* 97: 90-113, 1990.
- Beck AT** (1983). Cognitive therapy of depression: new perspectives. En: Clayton PJ y Barrett JE (Eds). *Treatment of depression: old controversies and new approaches*. Raven Press, New York, 1983. Pp. 265-290.
- Beckham EE, Leber WR, Youll LK** (1995). The diagnostic classification of depression. En: Beckham EE y Leber WR (Eds). *Handbook of depression*. Guilford. New York, 1995. Pp 36-60.
- Benca RM, Obermeyer WH, Thisted RA, Gillin JC.** Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 49: 651-668, 1992.
- Benington JH, Heller HC.** Monoaminergic and cholinergic modulation of REM-sleep timing in rats. *Brain Res* 681: 141-146, 1995.
- Benedetti F, Barbini B, Lucca A, Campori E, Colomb C, Smeraldi E** (1997). Sleep deprivation hastens the antidepressant action of fluoxetine. *Eur Arch Psychiatr Clin Neurosci* 247: 100-103, 1997.
- Benwell EM, Balfour DJ.** Effects of nicotine administration and its withdrawal on plasma corticosterone and brain 5-hydroxyindoles. *Psychopharmacology* 63: 7-11, 1979.
- Benwell EM, Balfour DJ.** The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *Br J Pharmacol* 105: 849-856, 1992.
- Benwell EM, Balfour DJK.** Regional variations in the effects of nicotine on catecholamine overflow in rat brain. *Eur J Pharmacol* 325: 13-20, 1997.
- Benwell EM, Balfour DJ, Anderson JM.** Smoking-associated changes in the serotonergic systems of discrete regions of human brain. *Psychopharmacology* 102: 68-72, 1990.
- Bergen A, Caporaso N.** Cigarette Smoking. *J Natl Cancer Inst.* 91(16): 1365-1375, 1999.
- Berger M, Emrich HM, Lund D, Riemann D, Lauer C.** Sleep-EEG variables as course criteria and predictors of antidepressant therapy with fluvoxamine/oxaprotiline. *Adv Pharmacotherapy* 2: 110-120, 1986.
- Berger M, Riemann D.** REM sleep in depression an overview. *J Sleep Res* 2: 211-223, 1993.
- Bier MJ, McCarley RW.** Effect of adrenergic agents infused into the medial pontine reticular formation on REM sleep in the freely moving cat. *Sleep Res* 20: 12, 1991.
- Bier MJ, McCarley RW.** REM-enhancing effects of the adrenergic antagonist idazoxan infused into the medial pontine reticular formation of the freely moving cat. *Brain Res* 94: 199-218, 1994.
- Bjorvatn B, Fagerland S, Eid T, Ursin R.** Sleep/waking effects of a selective 5-HT_{1A} receptor agonist given systemically as well as perfused in the dorsal raphe nucleus in rats. *Brain Res* 770(1-2):81-88, 1997.
- Blaier P, Ward NM.** Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? *Biol Psychiatry* 53(3): 193-203, 2003.
- Blier P, Montigny C.** Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol Sci* 15: 220-226, 1994
- Bock BC, Goldstein MG, Marcus BH.** Depression following smoking cessation in women. *J Subst Abuse* 8(1): 137-144, 1996.
- Bonilla-Jaime H, Retana-Marquez S, Velazquez-Moctezuma J.** Pharmacological features of masculine sexual behavior in an animal model of depression. *Pharmacol Biochem Behav* 60(1): 39-45, 1998.
- Borbély AA.** A two process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol* 1:195-204, 1982.
- Borbély AA, Steigrad P, Tobler I.** Effect of sleep deprivation on brain serotonin in the rat. *Behav Brain Res* 1:205-210, 1980.

- Borbély AA, Achermann P.** Concepts and models of sleep regulation: an overview. *J Sleep Res* 1: 63-79, 1992.
- Borsini F, Meli A.** Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology* 94: 147-160, 1988.
- Boshier A, Wilton LV, Shakir SA.** Evaluation of the safety of bupropion (Zyban) for smoking cessation from experience gained in general practice use in England in 2000. *Eur J Clin Pharmacol.* 59(10): 767-73, 2003.
- Bourin M, Retrobe JP, Hascoet M, Baker GB, Colombel MC.** A schematic representation of the psychopharmacological profile of antidepressants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 20(8): 1389-1402, 1996.
- Boye SM, Clarke PB.** Enhancement of haloperidol-induced catalepsy by nicotine: an investigation of possible mechanisms. *Can J Physiol Pharmacol.* 78(11):882-891, 2000
- Breese CR, Marks MJ, Logel J, Adams CE, Sullican B, Collins AC.** Effect of smoking history on (3H)nicotine binding in human postmortem brain. *J Pharmacol Exp Ther* 282: 7-13, 1997.
- Bremer F.** Cerveau "isolé" et physiologie du sommeil. *C R Soc Biol (Paris)* 118: 1235-1241, 1935.
- Breslau N, Kilbey MM, Andreski P.** Nicotine withdrawal symptoms and psychiatric disorders: findings from an epidemiological study of young adults. *Am J Psychiatry* 149: 464-472, 1992.
- Brown C, Madden PA, Palenchar DR, Cooper-Patrick L.** The association between depressive symptoms and cigarette smoking in an urban primary care sample. *Int J Psychiatry Med* 30(1): 15-26, 2000.
- Bunney WE Jr, Davis JM.** Norepinephrine in depressive reactions: a review. *Arch Gen Psychiatry* 13:483, 1965.
- Bunney WE, Bunney BG.** Molecular clock genes in man and lower animals: possible implications for circadian abnormalities in depression. *Neuropsychopharmacology* 22(4): 335-45, 2000.
- Burke MJ, Preskom SH.** Short-term treatment of mood disorders with standard antidepressants. En: Bloom FE, Kupfer DJ (Eds). *Psychopharmacology: the fourth generation of progress.* New York, NY. Raven Press, 1995. pp 1053-1065.
- Buyse DJ, Kupfer DJ.** Sleep disorders in depressive disorders. En: Mann JJ, Kupfer DJ (Eds). *Biology of depressive disorders, part A: a systems perspective.* New York, NY, Plenum Press, 1993. Pp: 123-154.
- Buyse DJ, Kupfer DJ, Frank E, Monk TH, Ritehour A.** Do electroencephalographic sleep studies predict recurrence in depressed patients successfully treated with psychotherapy? *Depression* 2: 105-108, 1994.
- Buyse DJ, Kupfer DJ, Cherry C, Stapf D, Frank J.** Effects of prior flexetine treatment on EEG sleep in women with recurrent depression. *Neuropsychopharmacology* 21: 258-267, 1999.
- Cano-Lozano MC, Espinosa-Fernández L, Miró E, Buela-Casal G.** Una revisión de las alteraciones del sueño en la depresión. *Rev Neurol* 36(4): 366-375, 2003.
- Capece ML, Mbuu Ngale Efangé S, Lydic R.** Vesicular acetylcholine transport inhibitor suppresses REM sleep. *Neuro Report* 8(2): 481-484, 1997.
- Carboni E, Acquas E, Leone P, Perezzi L, Di Chiara G.** 5-HT₃ receptor antagonist block morphine- and nicotine-induced place-preference conditioning. *Eur J Pharmacol* 151: 159-160, 1998.
- Carboni E, Acquas E, Leone P, Frau, R, Di Chiara G.** Differential inhibitory effects of a 5-HT₃ antagonist on drug-induced stimulation of dopamine release. *Eur J Pharmacol* 164: 515-519, 1989.
- Cartwright RD.** Sleeping problems. En: Costell CG (Ed). *Symptoms of depression.* New York, NY, John Wiley & Sons, 1993. Pp 243-257.
- Cesana R, Ceci A, Ciprandi C, Borsini F.** Mesulergine antagonism towards the fluoxetine anti-immobility effect in the forced swimming test in mice. *J Pharm Pharmacol* 45(5): 473-475, 1993.
- Celesia G, Jaspers H.** Acetylcholine released from cerebral cortex in relation to state of activation. *Neurology* 16: 1053-1063, 1966.
- Cespuglio R, Chastrette N, Jouvét M.** Opposite variations of 5-hydroxyindolacetic acid (5-HIAA) extracellular concentrations measured with voltammetry either in the axonal nerve endings or in the cell bodies of the nucleus raphe dorsalis, throughout the sleep-waking cycle *C R Acad Sci (Paris)* 307: 817-823, 1988.
- Cespuglio R, Gomez M, Faradji H, Jouvét M.** Alterations in the sleep-waking cycle induced by cooling of the locus coeruleus area.

Electroenceph Clin Neurophysiol 54: 570-578, 1982.

Cespuglio R, Houdouin F, Oulerich M, El Mansari M, Jouvet M. Axonal and somatodendritic modalities of serotonin release: their involvement in sleep preparation, triggering and maintenance. *J Sleep Res.* Sep;1(3):150-156, 1992

Chase MH, Morales FR. The control of motoneurons during sleep. En: Kryger MH, Roth T, Dement WC (Eds) Principles and practice of sleep medicine. Saunders WB, Philadelphia, 1994. Pp 163-175.

Cheeta S, Kenny PJ, File SE. Hippocampal and septal injections of nicotine and 8-OH-DPAT distinguish among different animal tests of anxiety. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry* 24: 1053-1067, 2000.

Cheeta S, Irvine EE, Kenny PJ, File SE. The dorsal raphe nucleus is a crucial structure mediating nicotine's anxiolytic effects and the development of tolerance and withdrawal responses. *Psychopharmacology* 155: 78-85, 2001a.

Cheeta S, Tucci S, File SE. Antagonism of the anxiolytic effect of nicotine in the dorsal raphe nucleus by dihydro-(α -erythroidine). *Pharmacol Biochem Behav* 70: 491-496, 2001b.

Chen C. Sleep, depression and Antidepressants. *Brit J Psychiatry* 135: 385-402, 1979.

Chen JP, van Praag HM, Gardner EL. Activation of 5-HT₃ receptor by 1-phenylbiguanide increases dopamine release in the rat nucleus accumbens. *Brain Res* 543: 354-357, 1991.

Chojnacka-Wojcik E, Tatarczynska E, Golembiowska K, Przegalinski E. Involvement of 5-HT_{1A} receptors in the antidepressant-like activity of gepirone in the forced swimming test. *Neuropharmacology* 30(7): 711-717, 1991.

Churchill L, Pazdernik DL, Samson F, Nelson SR. Topographical distribution of down-regulated muscarinic receptors in rat brains after repeated exposure to diisopropyl phosphorofluoridate. *Neurosci* 11: 463- 472, 1984.

Clancy JJ, Caldwell DF, Villeneuve MJ, Sangiah S. Daytime sleep-wake cycle in the rat. *Physiol Behav* 21(3):457-459, 1978

Clarke PB, Fu DS, Jakubovic A, Fibinger HC. Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 246: 701-708, 1988.

Clerc G, Noury J, Gittos M. Antidepressant effect of a tryptophan hydroxylase activation inhibitor, AGN 2979. *Am J Psychiatry.* Feb;143(2):264-265, 1986.

Conroy WG, Berg DK. Neurons can maintain multiple classes of nicotinic acetylcholine receptors distinguished by different subunit compositions. *J Biol Chem* 270: 4424-4430, 1995.

Coppen A. The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry.* 113:1237, 1967.

Cordero-Erausquin M, Changeux JP. Tonic nicotinic modulation of serotonergic transmission in the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 2803-2807, 2001.

Cordero-Erausquin M, Marubio LM, Klink R, Changeux JP. Nicotinic receptor function: new perspectives from knockout mice. *Trends Pharmacol Sci* 21: 211-217, 2000.

Corrigall WA, Coen KM. Nicotine self-administration and locomotor activity are not modified by the 5-HT₃ antagonists ICS 205-930 and MDL 72222. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 67-71, 1994

Costall B, Jones BJ, Kelly ME, Naylor RJ, Onaivi ES, Tyers MB. Sites of action of ondansetron to inhibit withdrawal from drugs of abuse. *Pharmacol Biochem Behav* 36: 97-104, 1990.

Court JA, Martin-Ruiz C, Graham A, Perry E. Nicotinic receptors in human brain: topography and pathology. *J Chem Neuroanat* 20: 281-298, 2000.

Covey LS. Tobacco cessation among patients with depression. *Prim Care* 26(3): 691-706, 1999.

Covey LS, Glassman AH, Stetner F. Cigarette smoking and major depression. *J Addict Dis* 17(1): 35-46, 1998.

Covey LS, Sullivan MA, Johnston JA, Glassman AH, Robinson MD, Adams DP. Advances in non-nicotine pharmacotherapy for smoking cessation. *Drugs* 59(1): 17-31, 2000.

Cowen DS, Molinoff PB, Manning DR. 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor-mediated increases in receptor expression and activation of nuclear factor-kappa B in transfected Chinese hamster ovary cells. *Mol Pharmacol* 52:221-226, 1997.

Coyle JT, Axelrod J (1971). Development of the uptake and storage of L-H³-norepinephrine in the rat brain. *J Neurochem* 18: 2061-2075.

Cryan JF, Leonard BE. 5-HT_{1A} and beyond: the role of serotonin and its receptors in depression and the antidepressant response. *Hum Psychopharmacol* 15: 113-135, 2000.

- Crochet S, Sakai K.** Effects of microdialysis application of monoamines on the EEG and behavioural states in the cat mesopontine tegmentum. *Eur J Neurosci* 11(10):3738-52, 1999.
- Cryan JF, Lucki I.** Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors. *J Pharmacol Exp Therap* 295: 1120-1126, 2000.
- Curro-Dossi R, Pare D, Steriade M.** Short-lasting nicotinic and long-lasting muscarinic depolarizing responses of thalamocortical neurons to stimulation of mesopontine cholinergic nuclei. *J Neurophysiol* 65: 393-406, 1991.
- Da-Rocha MA Jr, Puech AJ, Thiebot MH.** Influence of anxiolytic drugs on the effects of specific serotonin reuptake inhibitors in the forced swimming test in mice. *Psychopharmacol* 11(3): 211-218, 1997.
- Dalack GW, Glassman AH, Rivelli S, Covey L, Stetner F.** Mood, major depression, and fluoxetine response in cigarette smokers. *Am J Psychiatry* 152(3): 398-403, 1995.
- Datta S, Calvo JM, Quattrochi J, Hobson A.** Long-term enhancement of REM sleep following cholinergic stimulation. *NeuroReport* 2: 619-622, 1991.
- Delgado PL, Miller HL, Salomon RM.** Tryptophan-depletion challenge in depressed patients treated with desipramine or fluoxetine: implications for the role of serotonin in the mechanism of antidepressant action. *Biol Psychiatry* 46:212-220, 1999;
- Delorme F, Jeanneroid M, Jouvet M.** Effets remarquables de la reserpine sur l'activité EEG phasique pontogeniculooccipitale. *C R Soc Biol* 159: 900-903, 1965.
- Dement C, Henriksen S, Ferguson J.** The effect of the chronic administration of paraclorophenylalanine (PCPA) on sleep parameters in the cat. En: Brarchas J, Usdin E (Eds) *Serotonin and behavior*. Academic Press, New York, 1973. Pp 414-424.
- Detke MJ, Rickels M, Lucki I.** Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacol* 121: 66-72, 1995a.
- Detke MJ, Wieland S, Lucki I.** Blockade of the antidepressant-like effects of 8-OH-DPAT, buspirone and desipramine in the rat forced test by 5HT receptor antagonist. *Psychopharmacology* 119: 47-54, 1995b.
- Diagnostic Classification Steering Committee, Thorpy MJ, Chairman.** International classification of sleep disorders: diagnostic and coding manual. Rochester, Minnesota: American Sleep Disorders Association, 1990.
- Dixon AK.** Ethological strategies for defence in animal and humans: their role in some psychiatric disorders. *Brit J Med Psychology* 71: 417-445, 1998.
- Dixon AK, Fisch HU.** Animal models and ethological strategies for early drug-testing in humans. *Neurosci Behav Rev* 23: 345-358, 1998.
- Djuric VJ, Dunn E, Overstreet DH, Dragomir A, Steiner M.** Antidepressant effect of ingested nicotine in female rats of Flinders resistant and sensitive lines. *Physiol Behav* 67(4): 533-537, 1999.
- Dominiak P, Kees F, Grobecker H.** Changes in peripheral and central catecholaminergic and serotonergic neurons of rats after acute and subacute administration of nicotine. *Klin Wochenschr* 62(suppl 2): 76-80, 1984.
- Domino EF, Dren AT, Yamamoto KI.** Pharmacologic evidence for cholinergic mechanisms in neocortical and limbic activating systems. *Prog Brain Res* 27: 337-364, 1967.
- Domino EF, Yamamoto K.** Nicotine:effect on the sleep cycle of the cat. *Science* 150: 637-638, 1965.
- Dorsey CM, Lukas SE, Cunningham SL.** Fluoxetine-induced sleep disturbance in depressed patients. *Neuropsychopharmacology* 14: 437-442, 1996.
- Drucker-Colin R, Bernal-Pedraza J.** Kainic acid lesions of gigantocellular tegmental field (FTG) neurons does not abolish REM sleep. *Brain Res* 272: 387-391, 1983.
- Dunleavy DL, Brezinova V, Oswald I, MacLean AW, Tinker M.** Changes during weeks in effects of tricyclic drugs on the human sleeping brain. *Br J Psychiatry* 120: 663-672, 1972.
- Dusan-Peyrethon D, Froment J.** Effets du disulfiram sur les états de sommeil chez le chat. *CR Soc Biol (Paris)* 162: 2144-2145, 1968.
- Ehlers CL, Kupfer DJ.** Hypothalamic peptide modulation of EEG sleep in depression: a further application of the S-process hypothesis. *Biol Psychiatry* 22: 513-517, 1987.
- Elgoyhen AB, Vetter DE, Katz E, Rothlin CV, Heinemann SF, Boulter J.** alpha10: a determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear

- mechanosensory hair cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 98(6):3501-3506, 2001.
- Ellison JM, Stanzani P.** SSRI-associated nocturnal bruxism in four patients. *J Clin Psychiatry* 54: 432-434, 1993.
- Elmes D, Jarrard L, Swart P.** Helplessness in hippocampectomized rats: response perseveration? *Physiol Psychol* 3(1): 51-55, 1975.
- Engberg G, Erhardt S, Sharp T, Hajos M.** Nicotine inhibits firing activity of dorsal raphé 5-HT neurones in vivo. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 362: 41-45, 2000.
- Epping-Jordan MP, Watkins SS, Koob GF, Markou A.** Dramatic decreases in brain reward function during nicotine withdrawal. *Nature* 393: 76-79, 1998.
- Fairclough RH, Josephs R, Richman DP.** Imaging ligand binding sites on the torpedo acetylcholine receptor. *Ann N Y Acad Sci* 681: 113-125, 1993.
- Faradji H, Cespuglio R, Valantx JL, Jouvet M.** Effets du jeûne sur le phénomènes phasiques du sommeil paradoxal de la souris. *Physiol Behav* 23: 539-546, 1979.
- Fawcett J, Scheftnet WA, Fogg L, Clark DC, Young MA, Hedeke D.** Time-related predictors of suicide in major affective disorder. *Am J Psychiatry* 147: 1189-1194, 1990.
- Feestra MG, Van Galen H, Te Riele JM, Botterblom MH, Mirmiran M. (1996).** Decreased hypothalamic serotonin levels in adults rats treated postnatally with clomipramine. *Pharmacol Biochem Behav* 55:647-652.
- Feinberg I, Braun M, Koresko RL, Gottlieb F.** Stage 4 in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 21:262-266, 1969.
- Feinberg I, Carroll BJ.** Biological "markers" for endogenous depression. *Arch Gen Psychiatry* 41: 1080-1085, 1984.
- Feng P, Ma Y.** Instrumental REM sleep deprivation in neonates leads to adult depression-like behaviors in rats. *Sleep* 26(8): 990-6, 2003.
- Ferguson DM, Lynskey MT, Horwood LJ.** Comorbidity between depressive disorders and nicotine dependence in a cohort of 16-year-olds. *Arch Gen Psychiatry* 53: 1043-1050, 1996.
- Ferguson SM; Brodtkin JD.; Lloyd GK.; Menzaghi F.** Antidepressant-like effects of the subtype-selective nicotinic acetylcholine receptor agonist, SIB-1508Y, in the learned helplessness rat model of depression. *Psychopharmacology (Berl)* 152(3):295-303, 2000.
- Feuillade P, Pringuey D, Belugou JL, Robert P, Darcourt G.** Trimipramine: acute and lasting effects on sleep in healthy and major depressive subjects. *J Affect Disord* 24: 135-145, 1992.
- File SE, Cheeta S, Kenny PJ.** Neurobiological mechanisms by which nicotine mediates different types of anxiety. *Eur J Pharmacol* 393: 231-236, 2000a.
- File SE, Gonzalez LE, Andrews N.** Endogenous acetylcholine in the dorsal hippocampus reduces anxiety through actions on nicotinic and muscarinic-1 receptors. *Behav Neurosci* 112: 352-359, 1998a.
- File SE, Kenny PJ, Ouagazzal AM.** Bimodal modulation by nicotine of anxiety in the social interaction test: role of the dorsal hippocampus. *Behav Neurosci* 112: 1423-1429, 1998b.
- File SE, Kenny PJ, Cheeta S.** The role of the dorsal hippocampal serotonergic and cholinergic systems in the modulation of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 66: 65-72, 2000b.
- Fitzgerald RE, Oettinger R, Battig K.** Reduction of nicotine-induced hyperactivity by pCPA. *Pharmacol Biochem Behav* 23: 279-284, 1985.
- Flores CM, Davila-Garcia JM.** Characterization of bovine and human neuronal nicotinic acetylcholine receptors using monoclonal antibodies. *J Neurosci* 8: 3395-3404, 1988.
- Foote SL, Bloom FE, Aston-Jones G.** Nucleus locus coeruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev* 252: 117-127, 1983.
- Ford DE, Kamerow DBB.** Epidemiologic study of sleep disturbances and psychiatric disorders. *JAMA* 262: 1479-1484, 1989.
- Frank E, Kupfer DJ, Hamer T, Grochocinski VJ, McEACHran, AB.** Maintenance treatment and psychobiologic correlates of endogenous subtypes. *J affect Disord* 25: 181-190, 1992.
- Frith CD.** The effects of nicotine on tapping. *Life Sci* 6(14): 1541-1548, 1967.
- Fryer JD, Lukas RJ.** Antidepressants noncompetitively inhibit nicotinic acetylcholine receptor function. *J Neurochem* 72(3): 1117-1124, 1999.
- Fuchs E, Flugge G, Hutzelmeyer HD.** Response of rats to the presence of stressed conspecifics as a function of time of day. *Horm Behav* 21: 245-252, 1987.

- Fuller RW, Wong DT.** Inhibition of serotonin reuptake. *Fed Proc* 36(8): 2154-2158, 1977.
- Fullilove MT.** Social and economic causes of depression. *J Gen Specif Med* 5(2): 38-41, 2002.
- Gaddnas H, Pietila K, Ahtee L.** Effects of chronic oral nicotine treatment and its withdrawal on locomotor activity and brain monoamines in mice. *Behav Brain Res* 113: 65-72, 2000.
- Gadea-Ciria M, Stadler H, Lloyd K, Bartholini G.** Acetylcholine release within the cat striatum during the sleep-wakefulness cycle. *Nature* 243: 518-520, 1973.
- Gaillard JM.** Biochemical pharmacology of paradoxical sleep. *Br J Clin Pharmacol* 16:205S-230S, 1983.
- Gaillard JM, Lorio G, Kafi S, Blois R.** Paradoxical sleep without previous debt. The effect of minute doses of clonidine in man. *Sleep* 6:60-66, 1983.
- García-Ararras JE, Pappenheimer LR.** Site of action of sleep-inducing muramyl peptide isolated from human urine: microinjection studies in rabbit brains. *J Neurophysiol* 49: 528-533, 1983.
- Garcia-Colunga J, Award JN, Miledi R.** Blockage of muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors by fluoxetine (Prozac). *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(5): 2041-2044, 1997.
- Gardner JP, Fornal CA, Jacobs BL.** Effects of sleep deprivation on serotonergic neuronal activity in the dorsal raphe nucleus of the freely moving cat. *Neuropsychopharmacology* 17: 72-81, 1997.
- Garvey DS, Wasocal JT, Decker MW, Brioni JD, Sullivan JP, Carrera GM, Holladay MW, Arneric SP, Williams M.** Novel isoxazoles which interact with brain cholinergic channel receptors have intrinsic cognitive enhancing and anxiolytic activities. *J Med Chem*, 37:105-1059, 1994.
- George R, Haslett WL, Jenden DJ.** A cholinergic mechanism in the brain stem reticular formation: induction of paradoxical sleep. *Int J Neuropharmacol* 3541-3552, 1964.
- Gershon S, Hekimian LJ, Floyd A.** Non-correlation of preclinical-clinical evaluation of a proposed anti-depressant 4-phenyl-bicyclo (2,2,2) octan- 1-amine hydrochloride monohydrate (EXP 561). *Arzneimittelforschung*. 18(2):243-245, 1968.
- Gibbons JL, McHugh PR.** Plasma cortisol in depressive illness. *Psychiatry Res* 1: 162-167, 1962.
- Gilbert P, Allan S.** The role of defeat and entrapment (arrested flight) in depression: an exploration of an evolutionary view. *Psychological Med* 28: 535-598, 1998.
- Gilles DE, Etzel BA, Reynolds CF 3rd, Kupfer DJ.** Stability of polysomnographic parameters in unipolar depression: a cross-sectional report. *Biol Psychiatry* 25(6): 807-810, 1989.
- Gilles DE, Roffwarg HP, Rush AJ.** A cross-sectional study of the effects of depression on REM latency. *Biol Psychiatry* 28(8): 697-704, 1990.
- Gillin JC.** Sleep studies in affective illness: diagnostic therapeutic and pathophysiological implications. *Psychiatric Annals* 13: 367-384, 1983.
- Gillin JC, Borbely AA.** Sleep: a neurological window on affective disorders. *Trends in Neurosciences* 8 (12): 537-542, 1985.
- Gillin JC, Byerley WF.** The diagnosis and management of insomnia. *N Engl J Med* 322: 239-248, 1990.
- Gillin JC, Duncan WD, Pettigrew KD.** Successful separation of depressed, normal, and insomniac subjects by Sleep Data. *Arch Gen Psychiatry* 36:85-90, 1979.
- Gillin JC, Lardon M, Ruiz C, Golshan S, Salin-Pascual RJ.** Dose-dependent effects of transdermal nicotine on early morning awakening and rapid eye movement sleep time in non-smoking normal volunteers *J Clin Psychopharmacol* 14: 264-267, 1994.
- Gillin JC, Rapaport M, Erman MK, Winokur A, Albala BJ.** A comparison of nefazodone and fluoxetine on mood and an objective, subjective, and clinician-rated measures of sleep in depressed patients: a double-blind, 8-week clinical trial. *J Clin Psychiatry* 58: 185-192, 1997.
- Gillin JC, Salin-Pascual RJ, Velazquez-Moctezuma J, Shiromani P, Zoltoski R.** Cholinergic receptor subtypes and REM sleep in animals and normal controls. *Prog Brain Res* 98: 379-387, 1993.
- Gillin JC, Seifritz E, Landolt HP.** Pharmacological studies of 5-HT and sleep in humans. En: Borbély, Hayaishi, Sejnowski, Altman (Eds). *The regulation of sleep. Human Frontier Science Program, Strasbourg.* pp 140-147, 2000.
- Gillin JC, Wyatt RF, Fram D, Snyder F.** The relationship between changes in REM sleep and clinical improvement in depressed patients treated with amitriptyline. *Psychopharmacology* 59: 267-272, 1978.

- Gingrich JA, Hen R.** Dissecting the role of the serotonin system in neuropsychiatric disorders using knockout mice. *Psychopharmacology (Berl)* 155(1): 1-10, 2001.
- Giovanni MG, Ceccarelli I, Molinari B, Cecchi M, Goldfarb J, Blandina P.** Serotonergic modulation of acetylcholine release from cortex of freely moving rats. *J Pharmacol Exp Ther* 285: 1219-1225, 1998.
- Glassman AH.** Cigarette smoking: implications for psychiatric illness. *Am J Psychiatry* 150: 546-553, 1993.
- Glassman AH, Covey LS, Stetner F, Rivelli S.** Smoking cessation and the course of major depression: a follow-up study. *Lancet* 357(9272): 1929-1932, 2001.
- Glassman AH, Helzer JE, Covey LS, Stetner F, Tipp JE, Johnson J.** Smoking, smoking cessation, and major depression. *JAMA* 264: 1546-1549, 1990.
- Gnadt J, Pegram G.** Cholinergic brainstem mechanisms of REM sleep in the rat. *Brain Res* 384: 29-91, 1986.
- Goetz RR, Puig-Antich J, Ryan N, Rabinovich H, Ambrosini PJ, Nelson B, Krawiec V.** Electroencephalographic sleep of adolescents with major depression and normal controls. *Arch Gen Psychiatry* 44(1): 61-68, 1987.
- Goldberg SR, Spealman RD, Goldberg DM.** Persistent behavior at high rates maintained by intravenous self-administration of nicotine. *Science* 214: 573-575, 1981.
- Goodwin FK, Bunney WE.** Depressions following reserpine: a reevaluation. *Semin Psychiatry* 3:435-448, 1971
- Gorman JM, Kent JM.** SSRIs and SMRIs: broad spectrum of efficacy beyond major depression. *J Clin Psychiatry suppl* (60) 4: 433-438, 1999.
- Gottesmann C.** Introduction to the neurophysiological study of sleep: central regulation of skeletal and ocular activities. *Arch Ital Biol* 135(3): 279-314, 1997.
- Gray JA.** Behavioral and neural-system analyses of the actions of anxiolytic drugs. *Pharmacol Biochem Behav* 29(4): 767-769, 1988.
- Green TD, Reynolds CF III, Mulsant BH, Pollock BG, Miller MD, Houck PR.** Accelerating antidepressant response in geriatric depression: a post hoc comparison of combined sleep deprivation and paroxetine versus monotherapy with paroxetine, nortriptyline, or placebo. *Geriatr Psychiatry Neurol* 12(2): 67- 71, 1999.
- Grimsley SR, Jann MW.** Paroxetine, sertraline, and fluvoxamine: new selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin Pharm* 11: 930-957, 1992.
- Grottick AJ, Corrigan WA, Higgins GA.** Activation of 5-HT_{2C} receptors reduces the locomotor and rewarding effects of nicotine. *Psychopharmacology (Berl)* 157(3): 292-298, 2001.
- Guzman-Marin R, Alam MN, Mihalescu S, Szymusiak R, McGinty D, Drucker-Colin R.** Subcutaneous administration of nicotine changes dorsal raphe serotonergic neurons discharge rate during REM sleep. *Brain Res* 888: 321-325, 2001.
- Haddjeri N, Blier P, de Montigny.** Long-term antidepressant treatments result in a tonic activation of forebrain 5-HT_{1A} receptors. *J Neurosci* 18(23): 10150-10156, 1998.
- Hall SM, Munoz RF, Reus VI, Sees KL.** Nicotine, negative affect, and depression. *J Consult Clin Psychol* 61(5):761-767, 1993.
- Hansen HH, Mikkelsen JD.** Long-term effects on serotonin transporter mRNA expression of chronic neonatal exposure to a serotonin reuptake inhibitor. *Eur J Pharmacol* 352: 307-315.
- Heim C, Nemeroff CB.** The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry* 49:1023-39, 2001.
- Heimstra NW, Ellingstad VS, DeKock AR.** Effects of operator mood on performance in a stimulated driving task. *Percept Mot Skills* 25(3): 729-735, 1967.
- Heisler LK, Chu HM, Brennan TJ, Danao JA, Bajwa P, Parsons LH, Tecott LH.** Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 96(26): 15153-15154, 1998.
- Hendrickse WA, Riffwarg HP, Grannemann BD, Orsulak PJ, Armitage R, Cain JW.** The effects of fluoxetine on the polysomnogram of depressed outpatients: a pilot study. *Neuropsychopharmacology* 10: 85-91, 1994.
- Henninfield JE, Miyasato K, Jasinski DR.** Cigarette smokers self-administer intravenous injections of nicotine. *Pharmacol Biochem Behav* 19: 887-890, 1983.
- Hennings EC, Kiss JP, Vizi ES.** Nicotinic acetylcholine receptor antagonist effect of fluoxetine in rat hippocampal slices. *Brain Res* 759(2): 292-294, 1997.
- Hernandez-Peón R.** Central neuro-humoral transmission in sleep and wakefulness. *En*

- Akert K, Baly C & Schade JP (Eds) Progress in brain research. Elsevier Press, Amsterdam, 1965. pp 116-117.
- Hernandez-Peón R, Chavez-Ibarra G.** Sleep induced by electrical or chemical stimulation of the forebrain. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 24: 188-198, 1963.
- Higgins GA, Bradbury AJ, Jones BJ, Oakley NR.** Behavioral and biochemical consequences following activation of 5-HT₁-like and GABA receptors in the dorsal raphe nucleus of the rat. *Neuropharmacology* 27: 993-1001, 1988.
- Hilakivi LA, Hilakivi Y.** Increased adult behavioral despair in rats neonatally exposed to desipramine or zimelidine: an animal model of depression. *Pharmacol Biochem Behav* 28: 367-369, 1987.
- Hilakivi Y.** The role of beta and alpha adrenoreceptors in the regulation of the stages of sleep-waking cycle in the cat. *Brain Res* 277: 109-118, 1983.
- Hilakivi Y, Leppavouri A.** Effect of methoxamine, an alpha-1 adrenoceptor agonist, and prazosin, an alpha-1 antagonist, on the stages of the sleep-waking cycle in the rat. *Acta Physiol Scand* 122: 719-723, 1984.
- Ho AP, Gillin JC, Buchsbaum MS, Wu JC, Abel L, Bunney WE, Jr.** Brain glucose metabolism during non-rapid eye movement sleep in major depression. A positron emission tomography study. *Arch Gen Psychiatry* 53: 645-652, 1996.
- Hobson JA, Goldberg M, Vivaldi E, Riew D.** Enhancement of desynchronized sleep signs after pontine microinjection of the muscarinic agonist bethanecol. *Brain Res* 275: 127-136, 1983.
- Hobson JA, Lydic R, Baghdoyan HA.** Evolving concepts of sleep cycle generation: from brain centers to neuronal populations (with commentaries). *Behav Brain Sci* 9: 371-448, 1986.
- Hobson JA, McCarley RW, Wyzinski PW.** Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 189: 55-58, 1975.
- Hochli D, Riemann D, Zulley J, Berger M.** Initial REM sleep suppression by clomipramine: a prognostic tool for treatment response in patients with a major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 21: 1217-1220, 1986.
- Hodges H, Sowinski P, Sinden JD, Netto CA, Fletcher A.** The selective 5-HT₃ receptor antagonist, WAY 100289, enhances spatial memory in rats with ibotenate lesions of the forebrain cholinergic projection system. *Psychopharmacology* 117: 318-332, 1995.
- Hogg S, Andrews N, File SE.** Constrasting behavioral effects of 8-OH-DPAT in the dorsal raphe nucleus and ventral hippocampus. *Neuropharmacology* 33: 343-348, 1994.
- Holsboer F.** Prediction of clinical course of dexamethasone suppression test (DST) response in depressed patients-physiological and clinical construct validity of the DST. *Pharmacopsychiatry* 16: 186-191, 1983.
- Honda T, Semba K.** Serotonergic synaptic input to cholinergic neurons in the rat mesopontine tegmentum. *Brain Res* 647(2):299-306, 1994.
- Horan B, Smith M, Gardner EL, Lepore M, Ashby CR.** (-)-Nicotine produces conditioned place preference in Lewis, but not Fischer 344 rats. *Synapse* 26: 93-94, 1997.
- Horner RL, Sanford LD, Annis D, Pack AI, Morrison AR.** Serotonin at the laterodorsal tegmental nucleus suppresses rapid eye movement sleep in freely behaving rats. *J Neurosci* 17:7541-7552, 1997.
- Houdouin F, Cespuglio R, Jouvet M.** Effects induced by the electrical stimulation of the nucleus raphe dorsalis upon hypothalamic release of hydroxindole compounds and sleep parameters in the rat. *Brain Res* 565: 48-56, 1991.
- Hu B, Bouhassira D, Steriade M, Deschenes M.** The blockage of ponto-geniculo-occipital waves in the cat lateral geniculate nucleus by nicotinic antagonists. *Brain Res* 473(2):394-7, 1988.
- Hurt RD, SACHs DP, Glover ED, Offord KP, Johnston JA, Dale LC, Khayrallah MA, Schroeder DR, Glover PN, Sullivan CR, Croghan IT, Sullivan PM.** A comparison of sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation. *N Engl J Med* 337- 1195-1202, 1997.
- Imeri L, Bianchi S, Angeli P, Mancina M.** Differential effects of M2 and M3 antagonists on the sleep-Wake cycle. *NeuroReport* 2: 383-385, 1991.
- Imeri L, Bianchi S, Angeli P, Mancina M.** M1 and M3 muscarinic receptors: specific roles in sleep regulation. *NeuroReport* 3(3): 276-278, 1992.
- Imeri L, Bianchi S, Angeli P, Mancina M.** Stimulation of cholinergic receptors in the medial preoptic area affects sleep and cortical temperature. *Am J Physiol* 269: 294-299, 1995.
- Imeri L, Bianchi S, Angeli P, Mancina M.** Muscarinic receptor subtypes in the medial

preoptic area and sleep-wake cycles. *NeuroReport* 7: 417-420, 1996.

Imeri L, De Simoni G, Giglio R, Clavenna A, Mancia M. Changes in the serotonergic system during the sleep-wake cycle: simultaneous polygraphic and voltammetric recordings in hypothalamus using a telemetry system. *Neuroscience* 58(2): 353-358, 1994.

Irvine EE, Cheeta S, File SE. Time-course of changes in the social interaction test of anxiety following acute and chronic administration of nicotine. *Behav Pharmacol* 10: 691-697, 1999.

Irvine EE, Cheeta S, File SE. Tolerance to nicotine's effects in the elevated plus-maze and increased anxiety during withdrawal. *Pharmacol Biochem Behav* 68: 319-325, 2001a.

Irvine EE, Cheeta S, File SE. Development of tolerance to nicotine's anxiogenic effect in the social interaction test. *Brain Res* 894: 95-100, 2001b.

Ivanova S, Greenshaw AJ. Nicotine-induced decreases in VTA electrical self-stimulation thresholds: blockade by haloperidol and mecamylamine but not scopolamine or ondansetron. *Psychopharmacology* 134: 187-192, 1997.

Iwamoto ET. Antinociception after nicotine administration into mesopontine tegmentum of rats: evidence of muscarinic actions. *J Pharmacol Exp Ther* 251: 412-421, 1989.

Jacobs BL, Fornal CA. Activity of brain serotonergic neurons in the behaving animal. *Pharmacol Rev* 43: 563-578, 1991.

Jacobs BL, Fornal CA. 5-HT and motor control: a hypothesis. *Trends Neurosci* 16: 346-352, 1993.

Jacobs BL, Jones B. The role of central monoamine and acetylcholine systems in sleep-wakefulness states: mediation or modulation? In: Butcher L (Ed) *Monoaminergic-cholinergic interactions in the brain*. Academic Press, New York, pp 271-290, 1978.

Janowsky DL, El-Yousef MK, Davis JM. A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet* 11: 632-635, 1972.

Jarvik ME. Biological influences on cigarette smoking. *NIDA Res Monogr* 26:7-45, 1979.

Jasper H, Tessier J. Acetylcholine liberation from cerebral cortex in relation to its the state of activation. *Science* 147: 144-147, 1965.

Jewet RE, Norton S. Effects of some stimulants and depressant drugs on the sleep cycle of the cats. *Exp Neurol* 15: 463-474, 1966.

Jiang LH, Ashby CR, Kasser RJ, Wang RY. The effect of intraventricular administration of the 5-HT₃ receptor agonist 2-methylserotonin on the release of dopamine in the nucleus accumbens: an in vivo chronocoulometric study. *Brain Res* 513: 156-160, 1990.

Jones BE. Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neuroscience* 40(3): 637-656, 1991.

Jones BE, Yang TZ. The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anterograde and retrograde axonal transport in the rat. *J Comp Neurol* 242: 56-92, 1985.

Jorenby DE, Steinpreis RE, Sherman JE, Baker TB. Aversion instead of preference learning indicated by nicotine place conditioning in rats. *Psychopharmacology* 101: 533-538, 1990.

Jorenby DE, Leischow SJ, Nides MA, Rennard SI, Johnston JA, Hughes AR, Smith SS, Muramoto ML, Daughton DM, Doan K, Fiore MC, Baker TB. A controlled trial of sustained-release bupropion, a nicotine pACh, or both for smoking cessation. *N Engl J Med* 340: 685-691, 1999.

Jouvet M. Sleep and serotonin: an unfinished story. *Neuropsychopharmacology* 21(2 Suppl):24S-27S, 1999

Jouvet M. Neurophysiology of the states of sleep. *Physiol Rev* 47: 117-177, 1967.

Jouvet M. Biogenic amines and the states of sleep. *Science* 163: 32-41, 1969.

Jouvet M. The role of monoamine and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. *Ergebn Physiol* 64: 166: 307, 1972.

Jouvet M. The regulation of paradoxical sleep by the hypothalamo-hypophysis. *Arch Ital Biol* 126: 259-274, 1988.

Jouvet M, Renault J. Insomnie persistante apres lesion des noyaux du rafe chez le chat. *C R Soc Biol (Paris)* 160: 1461-1465, 1966.

Kales A, Kales J. Sleep laboratory evaluation of psychoactive drugs. *Pharmacol Physicians* 4(9): 1-6, 1970.

Karki N, Kunstzman R, Brodie BB. (1962). Storage, synthesis and metabolism of monoamines in the developing brain. *J Neurochemistry* 9:53-58.

Kasper S, Vieira A, Wehr TA, Schmidt R, Kick H, Voll G, Murphy DL. Serotonergically induced hormonal responses and the antidepressant effect of total sleep deprivation in patients with major depression *Psychopharm Bull* 24: 450-453, 1988.

- Kass P.** The cholinergic systems in brain and spinal cord. *Prog Neurobiol* 26: 211-272, 1986.
- Keck PE Jr, Hudson JI, Dorsey CM, Campbell PI.** Effect of fluoxetine on sleep (letter). *Biol Psychiatry* 29: 618-619, 1991.
- Kelsey J, Baker M.** Ventromedial septal lesions in rats reduce the effects of inescapable shock on escape performance and analgesia. *Behav Neurosci* 97(6): 945-961, 1983.
- Kem, WR, Mahnir VM, Lin B.** Interaction of DMXBA (GTS-21), a cognition-enhancing compound, with cholinergic receptors. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 20: 1134, 1994.
- Kenny PJ, Cheeta S, File SE.** Anxiogenic effects of nicotine in the dorsal hippocampus are mediated by 5-HT_{1A} and not by muscarinic M₁ receptors. *Neuropharmacology* 39: 300-307, 2000a.
- Kenny PJ, File SE, Neal MJ.** Evidence for a complex influence of nicotinic acetylcholine receptors on hippocampal serotonin release. *J Neurochem* 75: 2409-2414, 2000b.
- Kenny PJ, File SE, Rattray M.** Nicotine regulates 5-HT_{1A} receptor gene expression in the cerebral cortex and dorsal hippocampus. *Eur J Neurosci* 13: 1267-1271, 2001.
- Kerkhofs M, Rielart C, De Maertelaer V, Linkowski P, Czarka M, Mendlewicz J.** Fluoxetine in major depression: efficacy, safety and effects on sleep polygraphic variables. *Int J Clin Psychopharmacol* 5: 253-260, 1990.
- Kessler RC, McGonagle KA, Zhao S, Nelson CB, Hughes M, Eshleman S, Wittchen HU, Kendler KS.** Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 51(1): 8-19, 1994.
- Kirch DG, Gerhardt GA, Shelton RC, Freedman R, Wyatt RJ.** Effect of chronic nicotine administration on monoamine and monoamine metabolite concentrations in rat brain. *Clin Neuropharmacol* 10: 376-383, 1987.
- Kiss J, Leranthe C, Halasz B.** Serotonergic endings on VIP-neurons in the supraChiasmatic nucleus of the rat hypothalamus. *Neurosci Lett* 44: 119-124, 1984.
- Kodama T, Takahashi Y, Honda Y.** Enhancement of acetylcholine releasing during paradoxical sleep in dorsal tegmental field of cat brain stem. *Neurosci Lett* 114: 277-282, 1990.
- Koella P, Feldstein A, Czicman F.** The effect of parachlorophenylalanine on the sleep of cats. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 25: 481-490, 1968.
- Koyama Y, Kayama Y.** Mutual interactions among cholinergic, noradrenergic and serotonergic neurons by iontophoresis of these transmitters in rat brainstem nuclei. *Neurosci* 55: 1117-1126, 1993.
- Kayama Y, Koyama Y.** Control of sleep and wakefulness by brainstem monoaminergic and cholinergic neurons. *Acta Neurochir Suppl.*; 87:3-6, 2003.
- Kupfer DJ, Ehlers CL, Pollock BG, Nathan S, Perel JM.** Clomipramine and EEG sleep in depression. *Psychiatry Res* 30: 165-180, 1989.
- Kupfer DJ, Foster FG, Reich L, Thompson KS, Weiss R.** EEG sleep changes in REM sleep and clinical depression. *Am J Psychiatry* 133: 622-626, 1976.
- Kupfer DJ, Frank E, McEACHran AB, Grochocinski VJ.** Delta sleep ratio: a biological correlate of early recurrence in unipolar affective disorder. *Arch Gen Psychiatry* 47: 1100-1105, 1990.
- Kupfer DJ, Perel JM, Pollock BG, Nathan RS, Grochocinski VJ, Wilson MJ.** Fluvoxamine versus desipramine: comparative polysomnographic effects. *Biol Psychiatry* 29: 23-40, 1991.
- Kupfer DJ, Shipley JA, Perel JM, Pollock B, Coble PA, Spiker, DG.** Antidepressants and EEG sleep: search for specificity. *Psychopharmacol Ser* 3: 167-173, 1987.
- Lena C, Popa D, Grailhe R, Escourrou P, Changeux JP, Adrien J.** {beta}₂-containing nicotinic receptors contribute to the organization of sleep and regulate putative micro-arousals in mice. *J Neurosci* 24(25) 5711-5718, 2004.
- Lanfume L, Adrien J.** Regulation of sleep after neonatal locus coeruleus lesions: Functional evidence of beta-adrenergic supersensitivity. *Eur J Pharmacol* 79: 257-264, 1982.
- Lendvai B, Sershen H, Lajtha A, Santha E, Baranyi M, Vizi ES.** Differential mechanisms involved in effect of nicotinic agonists DMPP and lobeline to release (3H) (5-HT from rat hippocampal slices. *Neuropharmacology* 35: 1769-1777, 1996.
- Leonard CS, Llinas R.** Serotonergic and cholinergic inhibition of mesopontine cholinergic neurons controlling REM sleep: an *in vitro* electrophysiological study. *Neuroscience* 59: 309-330, 1994.
- Lerman C, Audrian J, Orleans CT, Boyd R, Glod K, Main D, Caporaso N.** Investigation of mechanisms linking depressed mood to

- nicotine dependence. *Addict Behav* 21: 9-19, 1996.
- Leveston S, Cryer P.** Endogenous cholinergic modulation of growth hormone secretion in normal and acromegalic humans. *Metabolism* 29: 703-706, 1980.
- Levin ED.** Nicotinic receptor subtypes and cognitive function. *J Neurobiol* 53(4):633-40, 2002.
- Li X, Rainnie DG, McCarley RW, Greene RW.** Presynaptic nicotinic receptors facilitate monoaminergic transmission. *J Neurosci* 18: 1904-1912, 1998.
- Lin JS, Jouvet M.** Hypothalamo-preoptic histaminergic projections in sleep-wake control in the cat. *Eur J Neurosci* 19: 31-38, 1994, 1994.
- Linville DG, Williams S, Raskiewicz JL, Arneric SP.** Nicotinic agonist modulate basal forebrain control of cortical cerebral blood flow in anesthetized rats. *J Pharmacol Exp Ther* 267(1): 440-448, 1993.
- Llinas RR, Pare D.** Of dreaming and wakefulness. *Neuroscience* 44: 521-535, 1991.
- Lucki I.** The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol* 8: 523-432, 1997.
- Lucki I, Dalvi A, Mayorga AJ.** Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. *Psychopharmacology* 155: 315-322, 2001.
- Lucki I, Singh A, Kreiss DS.** Antidepressant-like behavioral effects of serotonin receptor agonists. *Neurosci Biobehav Rev* 18(1):85-95, 1994.
- Lydic R, Baghdoyan HA.** Pedunculopontine stimulation alters respiration and increases ACh release in the pontine reticular formation. *Am J Physiol* 264: 544-554, 1993.
- Magni J, Moruzzi G, Pompeiano O.** Synchronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. *Arch Ital Biol* 99: 33-39, 1961.
- Malin DH, Lake JR, Newlin-Maultsby P, Roberts LK, Lanier JG, Carter VA.** Rodent model of nicotine abstinence syndrome. *Pharmacol Biochem Behav* 43: 779-784, 1992.
- Mallick BN, Alam MN.** Medial preoptic area affects sleep-wakefulness independent of associated body temperature in freely moving cats. *Brain Res* 750(1-2): 311-317, 1997.
- Mallick BN, Siegel J, Fahringer H.** Changes in pontine unit activity with REM sleep deprivation. *Brain Res* 515: 94-98, 1989.
- Marks MJ, Burch JB, Collins AC.** Effects of chronic nicotine infusion on tolerance development and nicotinic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 226: 817-825, 1983a.
- Marks MJ, Burch JB, Collins AC.** Genetics of nicotine response in four inbred strains of mice. *J Pharmacol Exp Ther* 226: 291-302, 1983b.
- Marks MJ, Pauly JR, Gross SD, Deneris ES, Hermans-Borgmeyer I, Heinemann SF.** Nicotine binding and nicotinic receptor sub-unit RNA after chronic nicotine treatment. *J Neurosci* 12: 2765-2784, 1992.
- Marshall DL, Redfern PH, Wonnacott S.** Presynaptic nicotinic modulation of dopamine release in the three ascending pathways studied by in vivo microdialysis: comparison of naive and chronic nicotine-treated rats. *J Neurochem* 68:1511-1519, 1997.
- Martinez-Gonzalez D, Prospero-García O, Mihailescu S, Drucker-Colín R.** Effects of nicotine on alcohol intake in a rat model of depression. *Pharmacol Biochem Behav* 72: 355-364, 2002.
- Marubio LM, del Mar Arroyo-Jimenez M, Cordero-Erausquin M, Lena C, Le Novere N, de Kerchove d'Exaerde A, Huchet M, Damaj MI, Changeux JP.** Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. *Nature* 398: 805-810, 1999.
- Mathieu-Kia AM, Pages C, Besson MJ.** Inducibility of c-Fos protein in visuo-motor system and limbic structures after acute and repeated administration of nicotine in the rat. *Synapse* 29: 343-354, 1998.
- Matta SG, Fu YT, Valentine JD, Sharp BM.** Response of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis to nicotine. *Psychoneuro-endocrinology* 23: 103-113, 1998.
- Maudhuit C, Hamon M, Adrien J.** Effects of chronic treatment with zimelidine and REM sleep deprivation on the regulation of raphe neuronal activity in a rat model of depression. *Psychopharmacology* 124: 267-274, 1996.
- Maura G, Andrioli GC, Cavazzani P, Raiteri M.** 5-Hydroxytryptamine₃ receptors sited on cholinergic axon terminals of human cerebral cortex mediate inhibition of acetylcholine release. *J Neurochem* 58: 2334-2337, 1992.
- Mavanji V, Datta S.** Sleep-wake effects of yohimbine and atropine in rats with a clomipramine-based model of depression. *Neuroreport* 13(13): 1603-1606, 2002a.
- Mavanji V, Datta S.** Clomipramine treatment in neonatal rats alters the brain acetylcholinesterase activity in adulthood. *Neurosci Lett* 330(1): 119-121, 2002b.

- Mavanji V, Meti B, Datta S.** Sleep-wake effects of meta-chlorophenyl piperazine and mianserin in the behaviorally depressed rat. *Eur J Pharmacol* 455(1): 35-41, 2002.
- McCarley RW.** REM sleep and depression: Common neurobiological control mechanisms. *Am J Psychiatry* 139(5): 565-570, 1982.
- McCarley RW.** Brainstem cholinergic systems and models of REM sleep production. En: Montplaisir J & Godbout R (Eds) *Sleep and biological rhythms: basic mechanisms and applications to psychiatry*. Oxford University Press, New York, 1990. Pp 131-147.
- McCarley RW, Greene RW, Rainnie DG, Portas CM.** Brainstem neuromodulation and REM sleep. *Semin Neurosci* 7:341-354, 1995.
- McCarley RW, Hobson JA.** Discharge patterns of cat pontine brain stem neurons during desynchronized sleep. *J Neurophysiol* 38(4): 751-766, 1975.
- McCarley RW, Nelson JP, Hobson JA.** Ponto-geniculo-occipital (PGO) waves. *Science* 201: 269-272, 1978.
- McCormick DA, Bal T.** Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Ann Rev Neurosci* 20: 185-215, 1997.
- McGinty DJ, Harper RM.** Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats. *Brain Res* 101: 569-575, 1976.
- McGinty DJ, Harper RM, Fairbanks MK.** 5-HT-containing neurons: unit activity in behaving cats. En: Barchas J, Usdin E (Eds) *Serotonin and behavior*. Academic Press, New York, 1973. Pp 267-279.
- McGinty DJ, Szymusiak R.** Neuronal unit activity patterns in behaving animals: brainstem and limbic system. *Ann Rev Psychol* 39: 135-168, 1988.
- Meguid MM, Fetissov SO, Varma M, Sato T, Zhang L, Laviano A, Rossi-Fanelli F.** hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition* 16: 843-857, 2000.
- Mendels J.** Concept of the depression. John Wiley & Sons (Ed.) New York, Pp 37-38, 1970.
- Mendels J, Cochrane C.** The nosology of depression: the endogenous-reactive concept. *Am J Psychiatry* 124 (suppl 1): 1-11, 1968.
- Mendelson B, Sitaram N, Wyatt J, Gillin C, Jacobs S.** Met-scopolamine inhibition of sleep related GH secretion: evidence for a cholinergic secretory mechanism. *J Clin Invest* 61: 1683-1690, 1978.
- Mendelson WB, Sack DA, James SP, Martin JV, Wagner R, Garnett D, Milton J, Wehr TA** Frequency analysis of the sleep EEG in Depression. *Psychiatry Research* 21(2):89-94, 1987.
- Mennini T, Mocaer E, Garattini S.** Tianeptine, a selective enhancer of serotonin uptake in rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 336(5):478-482, 1987.
- Mihailescu S, Drucker-Colin R.** Nicotine, brain nicotinic receptors, and neuropsychiatric disorders. *Arch Med Res* 31(2):131-44, 2000.
- Mihailescu S, Palomero-Rivero M, Meade-Huerta P, Maz-Flores A, Drucker-Colin R.** Effects of nicotine and mecamylamine on rat dorsal raphé neurons. *Eur J Pharmacol* 360: 31-36, 1998.
- Miller RR.** Drug surveillance utilizing epidemiologic methods: a report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program. *Am J Hosp Pharm* 30(7): 584-592, 1973.
- Mirmiran M, Van de Poll NE, Corner HG, Van Oyen H, Boer G.** Suppression of active sleep by chronic treatment with clomipramine during early postnatal development: effect on adult sleep and behavior in the rat. *Brain Res* 204: 129-146, 1981.
- Mitchell SN, Brazell MP, Joseph MH, Alavijeh MS, Gray JA.** Regionally specific effects of acute and chronic nicotine on rates of catecholamine and 5-hydroxytryptamine synthesis in rat brain. *Eur J Pharmacol* 167: 311-322, 1989.
- Miyata G, Meguid MM, Fetissov SO, Torelli GF, Kim HJ.** Nicotine's effect on hypothalamic neurotransmitters and appetite regulation. *Surgery* 126: 255-263, 1999.
- Mogilnicka E.** REM sleep deprivation changes behavioral response to catecholamines and serotonergic receptor activation in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 15: 149-151, 1981.
- Mokler D, Lariviere D, Johnson D, Theriault N, Bronzino J, Dixon M, Morgane P.** Serotonin neuronal release from dorsal hippocampus following electrical stimulation of the dorsal and median raphé nuclei in conscious rats. *Hippocampus* 8: 262-273, 1998.
- Montgomery AMJ, Rose IC, Herberg LJ.** The effect of a 5-HT₃ receptor antagonist, ondansetron, on brain stimulation reward, and its interaction with direct and indirect stimulants of central dopaminergic transmission. *J Neural Transm* 91: 1-11, 1993.
- Monti JM, Monti D.** Role of dorsal raphe nucleus serotonin 5-HT_{1A} receptor in the regulation of REM sleep. *Life Sci* 66: 1999-2012, 2000.

- Morales FR, Chase MH.** Intracellular recording of lumbar motoneuron membrane potential during sleep and wakefulness. *Exp Neurol* 62: 821-827, 1978.
- Morgane P.** Chemical mapping of hypnogenic and arousal systems in the brain. *Psychophysiology* 6: 219-221, 1969.
- Morrison AR.** Paradoxical sleep and alert wakefulness: variations on a theme: En: Chase MH, Weitzman ED (Eds) *Sleep disorders: basics and clinical research*. Spectrum, New York, 1983. Pp 95-127.
- Moruzzi G.** The sleep-waking cycle. *Ergeb Physiol* 64: 1-165, 1972.
- Moruzzi G, Magoun HW.** Brain stem reticular and activation of the EEG. *Electro-enceph Clin Neurophysiol* 1: 455-473, 1949.
- Mouret J, Froment J, Bobillier P, Jouvet M.** Etude neuropharmacologique et biochimique des insomnies provoquées par la PCPA. *J Physiol* 59: 463-468, 1967.
- Mouret J, Lemoine P, Minuit MP, Sanchez P, Taillard J.** Sleep polygraphic effects of trimipramine in depressed patients: Preliminary report. *Drugs* 38 (suppl 1) 14-16, 1989.
- Muneoka K, Ogawa T, Kamei K, Muraoka S, Tomiyoshi R, Mimura Y, Kato H, Suzuki MR, Takigawa M.** Prenatal nicotine exposure effects the development of the central serotonergic system as well as the dopaminergic system in rat offspring: involvement of route of drug administrations. *Dev Brain Res* 102: 117-126, 1997.
- Muneoka K, Ogawa T, Kamei K, Mimura Y, Kato H, Takigawa M.** Nicotine exposure during pregnancy is a factor which influences serotonin transporter density in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 411: 279-282, 2001.
- Musselman DL, Evans DL, Nemeroff CB.** The relationship of depression to cardiovascular disease: epidemiology, biology, and treatment. *Arch Gen Psychiatry*. 55(7):580-92, 1998.
- Nauta W.** Hypothalamic regulation of sleep in rats: an experimental study. *J Neurophysiol* 9: 285-316, 1946.
- Nayak SV, Ronde P, Spier AD, Lummis SC, Nichols RA.** Nicotinic receptors co-localize with 5-HT₃ serotonin receptors on striatal nerve terminals. *Neuropharmacology* 39: 2681-2690, 2000.
- Neill D, Vogel G, Hagler M, Kors D, Hennessey A.** Diminished sexual activity in a new model of endogenous depression. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 73-76, 1990.
- Newhouse PA, Sunderland T, Thompson K, Tariot PN, Weingartner H.** Intravenous nicotine in a patient with Alzheimer disease. *Am J Psychiatry* 43(11): 1494- 1495, 1986.
- Niaura R, Britt DM, Borrelli B, Shadel WG, Abrams DB, Goldstein MG.** History and symptoms of depression among smokers during a self-initiated quit attempt. *Nicotine Tob Res* 1(3):251-7, 1999.
- Nicholson AN, Pascoe PA.** REM sleep and sleep continuity. Depression and antidepressants. *Drugs* 38 (Suppl 1): 4-13, 1989.
- Nicholson AN, Pascoe PA, Stone BM.** Modulation of catecholamine transmission and sleep in man: Studies with mianserin hydrochloride and nomifensine. *Neuropharmacology* 25:271-274, 1986.
- Nicholson AN, Pascoe PA, Turner C.** Modulation of sleep by trimipramine in man. *Eur J Clin Pharmacol* 37(2): 145-50, 1988.
- Nilsson OG, Strecker RE, Daszuta A, Bjorklund A.** Combined cholinergic and serotonergic denervation of the forebrain produces severe deficits in spatial learning task in the rat. *Brain Res* 453: 235-246, 1988.
- Nixon MK, Hascoet M, Bourin M, Colombel MC.** Additive effects of lithium and antidepressants in the forced swimming test further evidence for involvement of the serotonergic system. *Psychopharmacology (Berl)* 115 (1-2): 59-64, 1994.
- Nofzinger EA, Buysse DJ, Reynolds III CF, Kupfer D.** Sleep disorders related to another mental disorder (Nonsubstance/Primary: A DSM IV literature review). *J Clin Psychiat* 54: 244-159, 1993.
- Nofzinger EA, Reynolds CF 3rd, Thase ME, Frank E, Jennings JR, Fasiczka AL, Sullivan LR, Kupfer DJ.** REM sleep enhancement by bupropion in depressed men. *Am J Psychiatry* 152:274-276, 1995.
- Nowell PD, Reynolds CF III, Buysse DJ, Dew MA, Kupfer DJ.** Paroxetine in the treatment of primary insomnia: preliminary clinical and electroencephalogram sleep data. *J Clin Psychiatry* 60(2): 89-95, 1999.
- O'Dell TJ, Christensen BN.** Mecamylamine is a selective non-competitive antagonist of N-methyl-D-aspartate- and aspartate-induced currents in horizontal cells dissociated from the catfish retina. *Neurosci Lett* 94: 93-98, 1988.
- Olausson P, Engel JA, Soderpalm B.** Behavioral sensitization to nicotine is associated with behavioral disinhibition: counteraction by citalopram. *Psychopharmacol* 142: 111-119, 1999.

- Onoe H, Watanabe Y, Ono K, Koyama Y, Hayaishi O.** Prostaglandin E2 exerts an awakening effect in the posterior hypothalamus at a site distinct from that mediating its febrile action in the anterior hypothalamus. *J Neurosci* 12(7): 2715-2725, 1992.
- Oswald I, Adam K.** Effects of paroxetine on human sleep *Br J Clin Pharmacol* 22(1): 97-99, 1986.
- Ott GE, Rao U, Lin KM, Gertsik L, Poland RE.** Effect of treatment with bupropion on EEG sleep: relationship to antidepressant response. *Int J Neuropsychopharmacol* Apr 26; 1-7, 2004.
- Ouagazzal AM, Kenny PJ, File SE.** Stimulation of nicotinic receptors in the lateral septal nucleus increases anxiety. *Eur J Neurosci* 11: 3957-1962, 1999.
- Overstreet DH, Janowsky DS, Gillin JC, Shiromani PJ, Sutin EL.** Stress-induced immobility in rats with cholinergic supersensitivity. *Biol Psychiatry*. 1986 21(7):657-64.
- Page ME, Detke MJ, Dalvi A, Kirby LG, Lucki I.** Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology* 147: 162-167, 1999.
- Park SBG, Smith AP, Cowen PJ.** 5-HT3 receptor blockade in nicotine withdrawal: study with BRL 46470A. *Hum Psychopharmacol* 8: 345-349, 1993.
- Parker LA.** Place conditioning in three- or four-choice apparatus: role of stimulus novelty in drug-induced place conditioning. *Behav Neurosci* 106: 294-306, 1992.
- Parks CL, Robinson PS, Sibille E, Shenk T, Toth M.** Increased anxiety of mice lacking the serotonin 1A receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(18): 10734-10739, 1998.
- Pastel RH, Fernstrom JD.** Short-term effects of fluoxetine and trifluoromethyl-phenylpiperazine on electroencephalographic sleep in the rat. *Brain Res* 436(1): 92-102, 1987.
- Paterson D, Nordberg A.** Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Prog Neurobiol* 61: 75-111, 2000.
- Pauly JR, Marks MJ, Robinson SF, Van de Kamp JL, Collins AC.** Chronic nicotine and mecamylamine treatment increase brain nicotinic receptor binding without changing alpha 4 or beta 2 mRNA levels. *J Pharmacol Exp Ther* 278: 361-369, 1996.
- Pavlidis C, Winston J.** Influences of hippocampal place cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. *J Neurosci* 9: 2807-2818, 1989.
- Peng X, Gerzanich V, Anand R, Whiting PJ, Lindstrom J.** Nicotine-induced increase in neuronal nicotinic receptors results from a decrease in the rate of receptor turnover. *Mol Pharmacol* 46: 523-530, 1994.
- Peters R, Evans S, Page D, Hall T, Gibbs J, Dieguez C, Scanlon R.** Cholinergic muscarinic receptor blockade with pirenzepine abolishes slow wave sleep related growth hormone release in normal adult males. *Clinical Endocrinol* 25: 213-217, 1986.
- Petitjean F, Buda C, Janin M, Sallanon M, Jouvret M.** Insomnie par administration de parAChlorophenylallanine reversibilite par injection peripherique on centrales de 5-hydroxytryptophane et de serotonine. *Sleep* 8: 57-67, 1985.
- Picazo O, Lopez-Rubalcava C, Fernandez-Guasti A.** Anxiolytic effect of the 5-HT1A compounds 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin and ipsapirone in the social interaction paradigm: evidence of a presynaptic action. *Brain Res Bull* 37: 169-175, 1995.
- Pidoplichko VI, De Biasi M, Williams JT, Dani JA.** Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature* 390: 401-404, 1997.
- Pomerleau O.** Endogenous opioids and smoking: a review of progress and problems. *Psyconeuroendocrinology* 23:115-138, 1998.
- Pomerleau OF, Downey KK, Stelson FW, Pomerleau CS.** Cigarette smoking in adult patients diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder. *J Subst Abuse* 7: 373-377, 1995.
- Pompeiano M, Palacios J, Mengod G.** Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT1A receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *J Neurosci* 12(2): 440-453, 1992.
- Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G.** Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 382: 255-257, 1996.
- Porsolt RD.** Behavioral despair. En Enna SJ, Malick JB, Richelson E (Eds.). *Antidepressants: Neurochemical, behavioral and clinical perspectives.* Raven Press. New York, 1981. pp 107-129.
- Porsolt RD, Bertin A, Blavet M, Daniel M, Jalfre M.** Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *Eur J Pharmacol* 57: 201-210, 1979.

- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M.** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature* 266: 730-732, 1977.
- Portas CM, Thakkar M, Rainnie D, McCarley RW.** Microdialysis perfusion of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) in the dorsal raphe nucleus decreases serotonin release and increases rapid eye movement sleep in the freely moving cat. *J Neurosci* 16: 2820-2828, 1996.
- Potter W, Muscettola G, Goodwin F.** Sources of variance in clinical studies in MHPG. In: Maas J, ed. *MHPG: Basic Mechanisms and Psychopathology*. New York, NY: Academic Press. Pp 145-165, 1983.
- Potter W, Grossman G, Rudorfer M.** Noradrenergic function in depressive disorders. In: Mann J, Kupfer D, eds. *Biology of Depressive Disorders, Part A: A Systems Perspective*. New York, NY: Plenum Press; pp 1-27, 1993.
- Prange AJ Jr, Wilson IC, Lynn CW.** L-tryptophan in mania: contribution to a permissive hypothesis of affective disorders. *Arch Gen Psychiatry* 30:56, 1974
- Prévot E, Maudhuit C, Le Poul E, Hamon M, Adrien J.** Sleep deprivation reduces the citalopram-induced inhibition of serotonergic neuronal firing in the nucleus raphe dorsalis of the rat. *J Sleep Res* 5:238-245, 1996.
- Próspero García O, Drucker Colín R.** Control neural del ciclo vigilia-sueño: mecanismos neurofisiológicos y neuroquímicos. En: Ramos Platón MJ (Ed) *Sueño y procesos cognitivos*. Editorial Síntesis, Madrid, 1996. Pp 131-160.
- Próspero García O, Miller RD, Henriksen SJ.** Hippocampal interneuron activity in unanesthetized rats: relation to sleep-wake cycle. *Neurosci Lett* 156: 158-162, 1993.
- Putkonen PTS, Leppavouri A.** Increase in paradoxical sleep after phentolamine, an alpha-adrenoceptor antagonist. *Acta Physiol Scand* 100: 488-490, 1977.
- Quattrocki E, Baird A, Yurgelun-Todd D.** Biological aspects of the link between smoking and depression. *Harv Rev Psychiatry* 8(3): 99-110, 2000.
- Quinn DI, Wodak A, Day RO.** Pharmacokinetic and pharmacodynamic principles of illicit drug use and treatment of illicit drug users. *Clin Pharmacokinet* 33(5):344-400, 1997.
- Rada PV, Mark GP, Hoebel BG.** In vivo modulation of acetylcholine in the nucleus accumbens of freely moving rats: I. Inhibition by serotonin. *Brain Res* 619: 98-104, 1993.
- Ramboz S, Oosting R, Amara DA, Kung HF, Blier P, Mendelsohn M, Mann JJ, Brunner D, Hen R.** Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(24): 14476-14481, 1998.
- Rasmussen K, CzAChura JF.** Nicotine withdrawal leads to increased sensitivity of serotonergic neurons to the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT. *Psychopharmacology* 133: 343-346, 1997.
- Rasmussen K, Kallman MJ, Helton DR.** Serotonin_{1A}-antagonists attenuates the effects of nicotine withdrawal on the auditory startle response. *Synapse* 27: 145-152, 1997.
- Razani H, Hedlund PB, Hansson AC, Fuxe K, Ogren SO.** 5-HT_{1A} receptor activation: short-term effects on the mRNA expression of the 5-HT_{1A} receptor and galanin in the raphe nuclei. *Neuroreport* 8: 3565-3570, 1997.
- Reavill C, Hatcher JP, Lewis VA, Sanger GJ, Hagan J.** 5-HT₄ receptor antagonism does not affect motor and reward mechanisms in the rat. *Eur J Pharmacol* 357: 115-120, 1998.
- Redrobe JP, MacSweeney CP, Bourin M.** The role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in antidepressant drug actions in the forced swimming test. *Eur J Pharmacol* 318(2-3): 213-220, 1996.
- Renéric JP y Lucki I.** Antidepressant behavioral effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology (Berl)* 136: 190-197, 1998.
- Ressler KJ, Nemeroff CB.** Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biol Psychiatry* 46:1219-1233,1999.
- Reuben M, Clarke PBS.** Nicotine-evoked (3H(5-hydroxytryptamine) release from rat striatal synaptosomes. *Neuropharmacology* 39: 290-299, 2000.
- Reynolds CF, Hoch CH, Buysee DJ, George CJ, Houck PR, Mazumdar S.** Sleep in late-life recurrent depression: changes during early continuation therapy with nortriptyline. *Neuropsychopharmacology* 5: 85-96, 1991.
- Reynolds CF III, Kupfer DJ.** Sleep research in affective illness: state of the art circa 1987. *Sleep* 10: 199-215, 1987.
- Ribeiro EB, Bettiker RL, Bogdanov M, Wurtman RJ.** Effects of systemic nicotine on serotonin release in rat brain. *Brain Res* 621: 311-318, 1993.
- Ridley DL, Balfour DJK.** The influence on nicotine on 5-HT overflow in the dorsal

- hippocampus of the rat. *Br J Pharmacol* 122: 301P, 1997.
- Riekkinen P, Sirvio J, Riekkinen M.** Serotonin depletion decreases the therapeutic effect of nicotine, but not THA in medial septal-lesioned rats. *Brain Res* 662: 95-102, 1994.
- Riemann D, Berger M, Vodorholzer U.** Sleep and depression, results from psychobiological studies: an overview. *Biol Psychol* 57(1-3): 67-103, 2001.
- Risinger FO, Oakes RA.** Nicotine-induced conditioned place preference and conditioned place aversion in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 51: 457-461, 1995.
- Rodgers B, Kortan AE, Jorm AF, Jacomb PA, Christensen H, Henderson AS.** Non-linear relationships in associations of depression and anxiety with alcohol use. *Psychol Med* 30:421-432, 2000.
- Rojas-Ramirez JA, Drucker-Colín R.** Sleep induced by spinal cord cholinergic stimulation. *Int J Neurosci* 5: 215-221, 1973.
- Role LW, Berg DK.** Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapse. *Neuron* 16: 1077-1085, 1996.
- Romanelli F, Adler DA, Bungay KM.** Possible paroxetine-induced bruxism. *Ann Pharmacother* 30: 1246-1248, 1996.
- Rosenthal NE, Joseph-Vanderpool JR, Levendosky AA.** Phase-shifting effects of bright morning light as treatment for delayed sleep phase syndrome. *Sleep* 13: 354-361, 1990.
- Rosenwasser AM, Hayes MJ.** Neonatal desipramine treatment alters free-running circadian drinking rhythms in rat. *Psychopharmacology* 115: 237-244, 1994.
- Roth T.** Diagnosis and treatment of sleep disorders in the depressed elderly (abstract). Presented at the American Psychiatric Association 150th Annual Mindustry Supported Symposium 23 Depression in the elderly; May 17-22, 1997: San Diego, CA.
- Ruch-MonAChon MA, Jalfre M, Haefly W.** Drugs and PGO waves in the lateral geniculate body of the curarized cat. IV: The effect of acetylcholine, GABA and benzodiazepines on PGO waves activity. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 219: 308-325, 1976.
- Rush AJ, Cain JW, Raese J, Stewart RS, Waller DA, Debus JR.** Neurobiological bases for psychiatric disorders. In Rosenberg RN (Ed). *Comprehensive neurology*. Raven Press, New York, pp 555-603, 1991.
- Rush AJ, Erman MK, Giles DE, Schlessler MA, Carpenter G, Vasavada N.** Polysomnographic findings in recently drug-free and clinically remitted depressed patients. *Arch Gen Psychiatry* 43: 878-884, 1986.
- Rush AJ, Giles DE, Roffwarg HP, Parker CR.** Sleep EEG and dexamethasone suppression test findings in outpatients with unipolar major depressive disorders. *Biol Psychiatry* 17: 327-340, 1982.
- Sachar E.** Disorder of feeling: affective disorders. In: Kandel E, Schwartz JF (Eds.) *Principles of neural Science*. Elsevier Press, Nueva York, 1981. Pp 17-72.
- Sagales T, Erill S, Domino EF.** Effects of repeated doses of scopolamine on the electroencephalographic stages of sleep in normal volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 18:727-732, 1975.
- Sakai K.** Some anatomical and physiological properties of pontomesencephalic tegmental neurons with special reference to PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. En: Hobson JA, Brazier MAB (Eds) *The reticular formation: revisited*. Raven Press, New York, 1980. Pp 111-137.
- Sakai K.** Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. En: McGinty DJ (Ed) *Brain mechanisms of sleep*. Raven Press, New York, 1985. Pp 111-137.
- Sakai K.** Executive mechanisms of paradoxical sleep. *Arch Ital Biol* 126: 239-257, 1988.
- Sakai K, El Mansari M, Lin JS, Zhang JG, Vanni-Mercier G.** The posterior hypothalamus in the regulation of wakefulness and paradoxical sleep. En: Mancina M & Marini G (Eds) *The diencephalon and sleep*. Raven Press, New York, 1990.
- Sakai K, Onoe H.** Critical role for m-3 muscarinic receptors in paradoxical sleep in the cat. *Eur J Neurosci* 9(3): 415-423, 1997.
- Sakai K, Sastre J, Salvert D, Touret M, Tohyama M, Jouvet M.** Tegmentoreticular projections with special reference to the muscular atonia during paradoxical sleep in the cat. *Brain Res* 176: 233-298, 1979.
- Saletu B, Frey R, Krupka M, Anderer P, Grunberger J, See WR.** Sleep laboratory studies on the single dose effect of serotonin reuptake inhibitors paroxetine and fluoxetine on human sleep and awakening qualities. *Sleep* 14: 439-447, 1991.
- Salín-Pascual RJ.** Alteraciones del sueño debido a problemas psiquiátricos. En: *Trastornos del dormir*. (Eds. Valencia M, Salín R y Pérez R.) Ed. McGraw Hill, México, 2000. Pp. 203-210.

- Salin-Pascual RJ, De la Fuente JR, Galicia-Polo L, Drucker-Colin R.** Effects of transdermal nicotine on mood and sleeping non smoking mayor depressed patients. *Psychopharmacol* 121: 476-479, 1995.
- Salin-Pascual RJ, Drucker-Colin R.** A novel effect of nicotine on mood and sleep in major depression. *NeuroReport* 92: 57-60, 1998.
- Salin-Pascual RJ, Moro-Lopez ML, Gonzalez-Sanchez H, Blanco-Centurion C.** Changes in sleep after acute and repeated administration of nicotine in the rat. *Psychopharmacol (Berl)* 145(2): 133-8, 1999.
- Salin-Pascual RJ, Rosas M, Jimenez-Genchi A, Rivera-Meza BL, Delgado-Parra V.** Antidepressant effect of transdermal nicotine patches in nonsmoking patients with major depression. *J Clin Psychiatry* 57(9): 387-389, 1996.
- Sallanon M, Buda C, Janin M, Jouvet M.** Implications of serotonin in sleep mechanisms: induction, facilitation. En Wauquier A, Monti J, Gaillard J, Radulovacki M (Eds) *Sleep: neurotransmitters and neuromodulators*. Raven Press. New York, 1985. Pp 136-159.
- Sallanon M, Janin M, Buda C, Jouvet M.** Serotonergic mechanisms and sleep rebound. *Brain Res* 268:95-104, 1983.
- Salomon RM, Delgado PL, Licinio J, Krystal JH, Heninger GR, Charney DS.** Effects of sleep deprivation on serotonin function in depression. *Biol Psychiatry* 36: 840-846, 1994.
- Sandor P, Shapiro CM.** Sleep patterns in depression and anxiety: theory and pharmacological effects. *J Psychosomatic Res* 38: 125-139, 1994.
- Sanford LD, Ross RJ, Seggos AE, Morrison AR, Ball WA, Mann GL.** Central administration of two 5-HT receptor agonists: effect on REM sleep initiation and PGO waves. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 93-100, 1994.
- Sargent PB.** The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Annu Rev Neurosci* 16: 403, 1993.
- Sarper C, Loewy A.** Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res* 197: 241-246, 1980.
- Sastre JP, Sakai K, Jouvet M.** Are the gigantocellular tegmental field neurons responsible for paradoxical sleep? *Brain Res* 229: 147-161, 1981.
- Schenk S.** Effects of the serotonin 5-HT₂ antagonist, ritanserin, and the serotonin 5-HT_{1A} antagonist, WAY 1000635, on cocaine-seeking in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 67: 363-369, 2000.
- Schenck CH, Mahowald MW, Kim SW, O'Connor KA, Hurwitz TD.** Prominent eye movements during NREM and REM sleep behaviour disorder associated with fluoxetine treatment of depression and obsessive-compulsive disorder. *Sleep* 15: 226-235, 1992.
- Schildkraut JJ.** The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 122:509, 1965.
- Schliebs R, Beas C.** Receptores colinérgicos en el cerebro de mamíferos. *Ciencia* 41: 287-296, 1990.
- Schwartz RD, Kellar KJ.** Nicotinic cholinergic receptor binding sites in the brain: regulation in vivo. *Science* 220: 214-216, 1983.
- Schwartz RD, Lehmann J, Kellar KJ.** Presynaptic nicotinic cholinergic receptors labelled by [³H] (acetylcholine on catecholamine and serotonin axons in brain. *J Neurochem* 42: 1495-1498, 1984.
- Seifritz E, Gillin, JC, Rapaport MH, Kelsoe JR, Bhatti T, Stahl SM.** Sleep electroencephalographic response to muscarinic and serotonin_{1A} receptor probes in patients with major depression and normal controls. *Biol Psychiatry* 44: 21-33, 1998.
- Seifritz E, Müller MJ, Annen O, Nil R, Hatzinger M, Hemmeter U, Moore P, Holsboer-Trachsler E.** Effect of sleep deprivation on neuroendocrine response to a serotonergic probe in healthy male subjects. *J Psychiatr Res* 31: 543-554, 1997.
- Segal M, Dubai Y, Amsterdam A.** Distribution of an alpha-bungarotoxin-binding cholinergic nicotinic receptor in rat brain. *Brain Res* 148(1): 105-119, 1978.
- Semba J, Matakai C, Yamada S, Nankai M, Toru M.** Antidepressant-like effects of chronic nicotine on learned helplessness paradigm in rats. *Biol Psychiatry* 43: 389-391, 1998.
- Semba K, Fibinger HC.** Afferent connections of the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei in the rat: a retro- and anterograde transport and immunohistochemical study. *J Comp Neurol* 323: 387-410, 1992.
- Senntag A, Rothe B, Guldner J, Yassouridis A Holsboer F, Steiger A.** Trimipramine and imipramine exert different effects on sleep EEG and on nocturnal hormone secretion during treatment of major depression. *Depression* 4: 1-13, 1996.
- Sgard F, Charpentier E, Bertrand S, Walker N, Caput D, Graham D, Bertrand D, Besnard F.** A novel human nicotinic receptor subunit, alpha₁₀, which confers functionality to the

- alpha9-subunit. *Mol Pharmacol.* 2002 61(1):150-9.
- Sharpley AL, Cowen PJ.** Effect of pharmacologic treatments on sleep of depressed patients. *Biol Psychiatry* 37: 85-98, 1995.
- Shiffman S, Johnston JA, Khayrallah M, Elash CA, Gwaltney CJ, Paty JA, Gnys M, Evoniuk G, DeVeugh-Geiss J.** The effect of bupropion on nicotine craving and withdrawal. *Psychopharmacology* 148: 33-40, 2000.
- Shimatzu A, Kato Y, Katakawi H, Yanaihara N, Imura H.** Serotonin stimulates vasoactive intestinal polypeptide from rat hypothalamus in vitro. *Brain Res* 264: 148-151, 1983.
- Shimatzu A, Kato Y, Matsushita N, Katakawi H, Yanaihara N, Imura H.** Stimulation by serotonin of vasoactive intestinal polypeptide release into rat hypophysial portal blood. *Endocrinology* 111: 338-340, 1982.
- Shipley JE, Kupfer DJ, Dealy RS, Griffin SJ, Coble PA, McEACHran AB.** Differential effects of amitriptyline and of zimelidine on the sleep electroencephalogram of depressed patients. *Clin Pharmacol Ther* 36: 251-259, 1984.
- Shipley JE, Kupfer DJ, Griffin SJ, Dealy RS, Coble PA, McEACHran AB.** Comparison of effects of disipramine and amitriptyline on EEG sleep of depressed patients. *Psychopharmacology* 85: 14-22, 1985.
- Shippenberg TS, Heidbreder C, Lefevour A.** Sensitization to the conditioned rewarding effects of morphine: pharmacology and temporal characteristics. *Eur J Pharmacol* 299: 33-39, 1996.
- Shiromani P, Kilduff TS, Bloom FE, McCarley RW.** Cholinergically induced REM sleep triggers Fos-like immunoreactivity in dorsolateral pontine regions associated with REM sleep. *Brain Res* 580: 351-357, 1992.
- Shiromani P, Overstreet D, Levy D, Goodrich C, Cambell S, Gillin C.** Increased REM sleep in rats genetically bred cholinergic hyperactivity. *Neuropsychopharmacol* 1: 127-133, 1988.
- Shoaib M, Schindler CW, Goldberg SR.** Nicotine self-administration in rats: strain and nicotine pre-exposure effects on acquisition. *Psychopharmacology* 129: 35-43, 1997.
- Shouse M, Siegel J.** Pontine regulation of REM sleep components in cats: integrity of the pedunculopontine tegmentum (PPT) is important for phasic events but unnecessary for atonia during REM sleep. *Brain Res* 571: 50-63, 1992.
- Siegel JM.** Brainstem mechanisms generating REM sleep. En: Kryger MH, Roth T, Dement WC (Eds) *Principles and practice of sleep medicine.* Saunders WB, Philadelphia, 1994. Pp 125-144.
- Siegel JM, Rogawski M.** A function for REM sleep: regulation of noradrenergic receptor sensitivity. *Brain Res* 13: 213-233, 1988.
- Sitaram N, Gillin JC.** Development and use of pharmacological probes of the CNS in man: evidence of cholinergic abnormalities in primary affective illness. *Biol Psychiatry* 15: 925-955, 1980.
- Sitaram N, Mendelson WB, Wyatt RJ, Gillin JC.** The time-dependent induction of REM sleep and arousal by physostigmine infusion during normal sleep. *Brain Res* 122(3):562-567, 1977.
- Sitaram N, Wyatt RJ, Dawson S, Gillin JC.** REM sleep induction by physostigmine infusion during sleep. *Science* 191: 1281-1283, 1976.
- Slater IH, Jones GT, Moore RA.** Inhibition of REM sleep by fluoxetine, a specific inhibitor of serotonin uptake. *Neuropharmacology* 17(6): 383-389, 1978.
- Slemmer JE, Martin BR, Damaj MI.** Bupropion is a nicotinic antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 295: 321-327, 2000.
- Sommerfelt I, Hauge ER, Ursin R.** Similar effects on REM sleep but differential effect on slow wave sleep of the two 5-HT uptake inhibitors zimelidine and alaproclate in cats and rats. *J Neural Transm* 68(1-2): 127-144, 1987.
- Sommerfelt L, Ursin R.** The effects of zimelidine and alaproclate combined with small doses of 5-HTP on waking and sleep stages in cats. *Behav Brain Res* 24: 1-10, 1987.
- Sorensen E, Bjorvatn B, Ursin R.** Sleep-wake effects following the selective 5-HT(1A) receptor antagonist p-MPPI in the freely moving rat. *Behav Brain Res* 114(1-2):31-38, 2000
- Spak L, Spak F, Allebeck P.** Alcoholism and depression in a Swedish female population: comorbidity and risk factors. *Acta Psychiatr Scand* 102: 44-51, 2000.
- Spealman RD, Goldberg SR.** Maintenance of schedule-controlled behavior by intravenous injections of nicotine in squirrel monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 223: 402-408, 1982.
- Spiegel K, Leprout R, Van Cauter E.** Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 354: 1435-1439, 1999.
- Sprouse JS, Aghajanian GK.** Electrophysiological responses of

- serotonergic dorsal raphé neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. *Synapse* 1: 3-9, 1987.
- Stadel JL, Strulovici B, Nambi P, Lavin TN, Briggs MM, Caron MG, Lefkowitz RJ.** Desensitization of the (-adrenergic receptor of frog erythrocytes. *J Biol Chem* 258: 3032-3038, 1983.
- Staner L, Kerkhofs M, Detroux D, Leyman S, Linkowski P, Mendlewicz J.** Acute, subchronic and withdrawal sleep EEG changes during treatment with paroxetine and amitriptyline: a double-blind randomized trial in major depression. *Sleep* 18: 470-477, 1995.
- Steiger A.** Sleep and endocrinology. *J Intern Med* 254(1):13-22, 2003.
- Steininger TL, Wainer BH, Blakely RD, Rye DB.** Serotonergic dorsal raphe nucleus projections to the cholinergic and noncholinergic neurons of the pedunculopontine region: a light and electron microscopic anterograde tracing and immunohistochemical study. *J Comp Neurol* 382: 302-322, 1997.
- Steriade M.** Cortical long-axoned cells and putative interneurons during the sleep-waking cycle. *Behav Brain Sci* 3: 465-514, 1978
- Steriade M.** Basic mechanisms of sleep generation. *Neurology* 42(suppl 6): 9-18, 1992.
- Steriade M.** Brain electrical activity and sensory processing during waking and sleep states. En: Kryger MH, Roth T, Dement WC (Eds) *Principles and practice of sleep medicine*. Saunders WB, Philadelphia, 1994. Pp 105-124, 1994
- Steriade M, Domich L, Oakson G.** The deafferent reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. *J Neurophysiol* 57: 160-173, 1987.
- Steriade M, Hobson JA.** Neuronal activity during sleep-waking cycle. *Prog Neurobiol* 6: 155-176, 1976.
- Steriade M, McCarley RW.** *Brainstem control of wakefulness and sleep*. Plenum Press, New York, 1990. Pp 326-353.
- Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ.** Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* 262: 679-685, 1993.
- Stern C, Morgane J.** Effects of alphanethyltyrosine on REM sleep and brain amine levels in the cat. *Biol Psychiatry* 6: 301-306, 1973.
- Strecker RE, Thakkar MM, Porkka-Heiskanen T, Dauphin LJ, Bjorkum AA, McCarley RW.** Behavioral state-related changes of extracellular serotonin concentration in the pedunculopontine tegmental nucleus: a microdialysis study in freely moving animals. *Sleep Res Online* 2(2): 21-27, 1999.
- Sudakov SK, Medvedeva OF, Rusakova IV, Terebilina NN, Goldberg SR.** Differences in genetic predisposition to high anxiety in two inbred rat strains: role of substance P, diazepam binding inhibitor fragment and neuropeptide Y. *Psychopharmacology (Berl)* 154(4): 327-335, 2001.
- Suemaru K, Araki H, Gomita Y.** Involvement of 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors in nicotine-induced tail tremor in rats. *Eur J Pharmacol* 408: 19-23, 2000.
- Summers KL, Giacobini E.** Effects of local and repeated systemic administration of (-) nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine, and serotonin in rat cortex. *Neurochem Res* 20: 753-759, 1995.
- Summers KL, Lippiello P, Giacobini E.** A microdialysis study of the effects of the nicotinic agonist RJR-2403 on cortical release of acetylcholine and biogenic amines. *Neurochem Res* 21: 1181-1186, 1996.
- Summers KL, Lippiello P, Verhulst S, Giacobini E.** 5-Fluoronicotine, noranhydroecgonine and pyridylmethylpyrrolidine release acetylcholine and biogenic amines in rat cortex in vivo. *Neurochem Res* 20: 1089-1094, 1995.
- Suzuki T, Ise Y, Mori T, Misawa M.** Attenuation of mecamylamine-precipitated nicotine-withdrawal aversion by the 5-HT₃ receptor antagonist ondansetron. *Life Sci* 61: 249-254, 1997.
- Szymusiak R, McGinty D.** Sleep-waking discharge of basal forebrain projection neurons in cats. *Brain Res Bull* 22: 423-430, 1989.
- Szymusiak R, McGinty D.** Control of slow wave sleep by thermoregulatory mechanisms. *Prog Clin Biol Res* 345: 53-64, 1990.
- Takada Y, Urano T, Ihara H, Takada A.** Changes in the central and peripheral serotonergic system in rats exposed to water-immersion restrained stress and nicotine administration. *Neurosci Res* 23: 305-311, 1995.
- Takahashi H, Takada Y, Nagai N, Urano T, Takada A.** Nicotine increases stress-induced serotonin release by stimulating nicotinic acetylcholine receptors in rat striatum. *Synapse* 28: 212-219, 1998.
- Takahashi Y, Kipnis DM, Danghaday WH.** Growth hormone secretion during sleep. *J Clin Invest* 47: 2079-2090, 1968.

- Talwar A, Kumar VM.** Effect of carbacol injection in the medial preoptic area on sleep-wakefulness and body temperature in free moving rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 38(3): 163-168, 1994.
- Taylor J, Smith P, Brook C.** Inhibition of physiological growth hormone secretion by atropine. *Clinical Endocrinol* 22: 497-501, 1985.
- Tejani-Butt S, Kluczynski J, Pare WP.** Strain-dependent modification of behavior following antidepressant treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27(1): 7-14, 2003.
- Thakkar M, Malick BN.** Effect of rapid eye movement sleep deprivation on rat brain monoamine oxidases. *Neuroscience* 55: 677-683, 1993.
- Thakkar M, Strecker RE, McCarley RW.** Behavioral state control through differential serotonergic inhibition in the mesopontine cholinergic nuclei: a simultaneous unit recording and microdialysis study. *J Neurosci* 18(14): 5490-5497, 1998.
- Thase, ME.** Depression, sleep and antidepressants. *J Clin Psychiatry* 59(4): 55-65, 1998a.
- Thase, ME.** Is there a biological boundary to psychotherapy response in depression? **Psychiatry Grad Rounds Presentation** March 27, 1998b.
- Thase, ME, Kupfer DJ.** Current status of EEG sleep in the assessment and treatment of depression. En: Burrows GD, Werry JS (Eds). *Advances in human psychopharmacology*, Vol. 4. Greenwich, Connecticut, JAI Press, 1987. Pp 93-148.
- Thase ME, Howland RH.** Biological processes in depression: an update and integration. En: Beckham EE y Leber WR (eds). Guilford, New York, 1995. Pp 213-279.
- Thase ME, Reynolds CF III, Frank E, Jennings JR, Nofzinger E, Fasiczka AL.** Polysomnographic studies of unmedicated depressed en before and after cognitive behavioral therapy. *Am J Psychiatry* 151: 1615-1622, 1994.
- Thierry B, Steru L, Chermat R, Simon P.** Searching-waiting strategy: a candidate for an evolutionary model of depression? *Behav Neural Biol* 41(2): 180-189, 1984.
- Thompson C.** Onset of action of antidepressants: results of different analyses. *Hum Psychopharmacol* 17(suppl 1): S27-S32, 2002.
- Tizabi Y, Overstreet DH, Rezvani AH, Louis VA, Clark E Jr, Janowsky DS, Kling MA.** Antidepressant effects of nicotine in an animal model of depression. *Psychopharmacology* 142(2): 193-199, 1999.
- Tizabi Y, Rezvani AH, Russell LT, Tyler KY, Overstreet DH.** Depressive characteristics of FSL rats: involvement of central nicotinic receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 66(1): 73-77, 2000.
- Toth E, Sershen H, Hashim A, Vizi ES, Lajtha A.** Effect of nicotine on extracellular levels of neurotransmitters assessed by microdialysis in various brain regions: role of glutamic acid. *Neurochem Res* 17: 265-271, 1992.
- Trivedi MH, Rush AJ, Armitage R, Gullion CM, Grannemann BD, Orsulak PJ.** Effects of fluoxetine on the polysomnogram in outpatients with major depression. *Neuropsychopharmacology* 20: 447-459, 1999.
- Trulson ME, Jacobs BL.** Raphe unit activity in freely moving cats: correlation with level of behavioral arousal. *Brain Res* 163: 135-150, 1979.
- Tsai LL, Bergmann BM, Perry BD, Rechtschaffen A.** Effects of chronic total sleep deprivation on central noradrenergic receptors in rat brain. *Brain Res* 602 (2) : 221-227, 1993
- Tsai LL, Tsai YF.** Changes in sleep patterns by intralaminar thalamic microinjection of fluoxetine in rats. *Proc Natl Sci Council Repub China B* 17(1): 15-20, 1993.
- Ulett JA, Itil TM.** Quantitative electroencephalogram in smoking and smoking deprivation. *Science* 164: 969-970, 1969.
- Ursin R.** The effects of 5-hydroxytryptophan and L-tryptophan on wakefulness and sleep patterns in the cat. *Brain Res* 106: 105-115, 1976.
- Ursin R, Serotonin and sleep.** *Sleep Med Rev* 6(1): 57-69, 2002.
- Ursin R, Sommerfelt L, Bjorvatin B, Sunderland G.** Effect of serotonergic compounds on slow wave sleep and EEG power spectrum in cats and rats. En: Wauquier A, Dugovic C, Radulovacki M (Eds) *Slow wave sleep: physiological and functional aspects.* Raven Press, New York, 1989. Pp 167-181.
- US Department of Health and Human Services.** The health consequences of smoking: nicotine addiction. A report of the Surgeon General. Rockville, Maryland: Public Health Service, Centers for Disease Control,

- Office on Smoking and Health, 1988. (DHHS Publication No (CDC) 88-8406) 1988.
- Üstün TB, Ayuso-Mateos JL, Chatterji, S, Mathers, C, Murray CJL, Phil D.** Global burden of depressive disorders in the year 2000. *Br J Psychiatry* 184: 386-392, 2004.
- Valentine JD, Hokanson JS, Matta SG, Sharp BM.** Self-administration in rats allowed unlimited access to nicotine. *Psychopharmacol* 133: 300-304, 1997.
- Van Bommel AL, Van den Hoofdakker RH, Beersma DG, Bouhuys AL.** Changes in sleep polygraphic variables and clinical state in depressed patients during treatment with citalopram. *Psychopharmacology (Berl)* 113(2): 225-230, 1993.
- Van den Burg W, Beersma DG, Bouhuys AL, Van den Hoofdakker RH.** Self-rated arousal concurrent with the antidepressant response to total sleep deprivation of patients with a major depressive disorder: a disinhibition hypothesis. *J Sleep Res* 1: 211-222, 1992.
- Van den Burg W, Van den Hoofdakker RH.** Total sleep deprivation on endogenous depression. *Arch Gen Psychiatry* 32: 1121-1125, 1975.
- Van de Kar LD.** Neuroendocrine aspects of the serotonergic hypothesis of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 13: 237-246, 1989.
- Vanderwolf CH.** Cerebral activity and behavior: control by central cholinergic and serotonergic systems. *Int Rev Neurobiol* 30: 225-340, 1988.
- Vasar V, Appelberg B, Rimon R, Selvaratnam J.** The effect of fluoxetine on sleep: a longitudinal, double-blind polysomnographic study of healthy volunteers. *Int Clin Psychopharmacol* 9(3): 2003-206, 1994.
- Vazquez J, Guzmán-Marín R, Salín-Pascual RJ, Drucker-Colin R.** Transdermal nicotine on sleep and PGO spikes. *Brain Res* 737: 317-320, 1996.
- Velazquez Moctezuma J.** Panorámica actual de los modelos animales de depresión. *Psiquis* 1: 11-13, 1994.
- Velazquez Moctezuma J, Diaz RO.** Neonatal treatment with clomipramine increased immobility in the forced swim test: an attribute of animal models of depression. *Pharmacol Biochem Behav* 42: 737-739, 1992.
- Velazquez Moctezuma J, Shalauta M, Gillin JC, Shiromani PJ.** Microinjections of nicotine in the medial pontine reticular formation elicit REM sleep. *Neurosci Lett* 115: 265-268, 1990.
- Velazquez Moctezuma J, Gillin JC, Shiromani PJ.** Effect of specific M1, M2 muscarinic receptor agonist on REM sleep generation. *Brain Res* 503: 128-131, 1989.
- Velazquez Moctezuma J, Shalauta M, Gillin JC, Shiromani PJ.** Cholinergic antagonists and REM sleep generation. *Brain Res* 543:175-179, 1991.
- Velluti J, Hernandez-Peón R.** Atropine blockade within a cholinergic hypnogenic circuit. *Exp Neurol* 8: 20-29, 1963.
- Vertes RP.** A life sustaining function for REM sleep: a theory. *Biobehav Rev* 10(4): 371-376, 1986.
- Vijakumar M, Meti BL. (1999).** Alterations in the levels of monoamines in discrete brain regions of clomipramine-induced animal model of endogenous depression. *Neurochem Res* 24 (3): 345-349.
- Vizi ES, Kiss JP.** Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus* 8: 566-607, 1998.
- Vizi ES, Lendvai B.** Modulatory role of presynaptic nicotinic receptors in synaptic and nonsynaptic chemical communication in the central nervous system. *Brain Res Rev* 30: 219-235, 1999.
- Vogel, GW.** Evidence for REM sleep deprivation as the mechanism of action of antidepressant drugs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 7: 343-349, 1983.
- Vogel, G, Cohen J, Mullis D, Kensler T, Kaplita S.** Nefazodone and REM sleep: How do antidepressant drugs decrease REM sleep. *Sleep* 21:70-77, 1998.
- Vogel, GW, Buffenstein A, Minter K, Hennessey A.** Drug effects on REM sleep and on endogenous depression. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 49-63, 1990.
- Vogel GW, Buffenstein A, Minter K.** Drug effects on REM sleep and endogenous depression. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 4963-4981, 1990a.
- Vogel G, Hagler M, Hennessey A, Richard C.** Dosis-dependent decrements in adult male rat sexual behavior after neonatal clomipramine treatment. *Pharmacol Biochem Behav* 54: 605-609, 1996.
- Vogel G, Neill D, Hagler M, Kors D.** A new animal model of endogenous depression: a summary of present findings. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 85-87, 1990c.
- Vogel, G, Neill D, Kors D, Hartley P.** REM sleep abnormalities in a new animal model of

- endogenous depression. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 77-83, 1990d.
- Vogel GW, Thasmond A, Gibbons R.** REM sleep reduction effects on depressive syndromes. *Arch Gen Psychiatry* 32: 765-777, 1975.
- Vogel G, Vogel FA.** A new animal model of human endogenous depression. *Sleep Res* 11: 222-225, 1982.
- Wakasa Y, Takada K, Yanagita T.** Reinforcing effect as a function of infusion speed in intravenous self-administration of nicotine in rhesus monkeys. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 15: 53-59, 1995.
- Warburton DM, Wesnes K, Shergold K, James M.** Facilitation of learning and state dependency with nicotine. *Psychopharmacology (Berl)* 89(1): 55-59, 1986.
- Ware JC, Brown FW, Moorad PJJ, Pittard JT, Cobert B.** Effects on sleep: a doubleblind study comparing trimipramine to imipramine in depressed insomniac patients. *Sleep* 12: 537-549, 1989.
- Wauquier A.** Pharmacology of the catecholaminergic system. In: Kales A (Ed) *The pharmacology of sleep*. Springer, Berlin. pp 91-116; 1995.
- Webster H, Jones B.** Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Res* 458: 285-302, 1988.
- Wehr TA, Wirz-Justice A, Goodwin FK, Duncan W, Gillin JC.** Phase advance of the circadian sleep-wake cycle as an antidepressant. *Science* 206: 710-713, 1979.
- Wehr TA.** Effects of wakefulness and sleep on depression and mania. En: J. Montplaisir, R. Godbout (Eds.). *Sleep and biological rhythms: basic mechanisms and applications to psychiatry*. New York, Oxford University Press, 1990. Pp 42-86.
- West R, Hajek P, McNeill A.** Effect of bupirone on cigarette withdrawal symptoms and short-term abstinence rates in a smoker's clinic. *Psychopharmacology* 104: 91-96., 1991.
- Whiting PJ, Lindstrom JM.** Pharmacological properties of immuno-isolated neuronal acetylcholine receptors. *J Neurosci* 6: 3061-3070, 1986.
- Whiting PJ, Lindstrom JM.** Characterization of bovine and human neuronal nicotinic acetylcholine receptors using monoclonal antibodies. *J Neurosci* 8: 3395-3404, 1988.
- WHO.** Depression. (Documento en línea) Mental health home. 2003<http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/> [consulta 03/mayo/2004].
- WHO.** Mental and neurological disorders. (Documento en línea). Mental health home. Fact sheet N°265, 2001. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs265/en/print.html>> [consulta 03/mayo/2004].
- Wiegand M, Berger M, Zulley J, Von Zerssen D.** The effect of trimipramine on sleep in patients with major depressive disorder. *Pharmacopsychiatry* 19: 198-199, 1986.
- Willner, P.** The validity of animal models of depression. *Psychopharmacol (Berlin)* 83: 1-16, 1984.
- Willner P.** Behavioural models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives. Cambridge University Press, 1991.
- Willner P, Goldstein RC.** Mediation of depression by perceptions of defeat and entrapment in high-stress mothers. *Br Med Psychol* 74(4): 473-485, 2001.
- Wingard DL, Berkman LF.** Mortality risk associated with sleeping patterns among adults. *Sleep* 6: 102-107, 1983.
- Winokur A, Sewith DE, Bimaur IV, Philips JL.** Effects of sertraline on sleep architecture in patients with major depression. *Clin Neuropharmacol Suppl* 1: 84D, 1992.
- Whitaker-Azmitia PM.** Serotonin and brain development: role in human developmental diseases. *Brain Res Bull* 56(5):479-85, 2001
- Wonnacott S.** The paradox of nicotinic receptor upregulation by nicotine. *Trends Pharmacol Sci* 11: 216-219, 1990.
- Wonnacott S.** Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci* 20:92-98, 1997.
- Wonnacott S, Irons J, Rapier C, Thorne B, Lunt GG.** Presynaptic modulation of transmitter release by nicotinic receptors. *Prog Brain Res* 79: 157-163, 1989.
- Woodruff-Pak DS, Y-T Li, Kem WR.** A nicotinic agonist (GTS-21), eyeblink classical conditioning, and nicotinic receptor binding in rabbit brain. *Brain Res* 645: 309-317, 1994.
- Yang ZJ, Blaha V, Meguid MM, Oler A, Miyata G.** Infusion of nicotine into the LHA enhances dopamine and 5-HT release and suppresses food intake. *Pharmacol Biochem Behav* 64: 155-159, 1999.
- Yavari P, Vogel G, Neill D.** Decreased raphe unit activity in a rat model of endogenous depression. *Brain Res* 611: 31-36, 1993.

Yu ZJ, Wecker L. Chronic nicotine administration differentially affects neurotransmitter release from rat striatal slices. *J Neurochem* 63: 186-194, 1994.

Zacny JP, Apfelbaum JL, Lichtor JL, Zaragoza JG. Effects of 5-hydroxytryptamine₃ antagonist, ondansetron, on cigarette smoking, smoke exposure, and mood in humans. *Pharmacol Biochem Behav* 44: 387-391, 1993.

Zandio M, Ferrín M, Cuesta MJ. Neurobiología de la depresión. *Anales* 25(3): 43-62, 2002.

Zoli M, Lena C, Picciotto MR, Changeux JP. Identification of four classes of brain nicotinic receptors using 2 mutant mice. *J Neurosci* 18: 4461-4472, 1998.