

**Programa de Investigación Biomédica (PROINBIO)  
Escuela de Graduados, Facultad de Medicina, Universidad de la República**

**Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas**

# **Efecto de la privación de sueño sobre la variabilidad de la frecuencia cardíaca**

**Dra. Noelia Velásquez**

**Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología  
Facultad de Medicina- Universidad de la República**

**Orientador: Dr. Pablo Torterolo**

**Co-orientador: Dr. Eduardo R. Migliaro**

***Financiado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación con beca a Posgrado Nacional -  
Código: POS\_NAC\_2016\_1\_10784[450]***

## Resumen

La privación de sueño es una entidad muy frecuente y con diversos efectos a nivel de los procesos cognitivos y fisiológicos. A su vez, constituye tanto un problema médico como social por las consecuencias de sus efectos. Durante el sueño se distinguen dos estados comportamentales: el sueño no-REM (NREM) y REM. Durante el sueño NREM hay una escasa actividad cognitiva y un adecuado control homeostático de las funciones fisiológicas. Durante el sueño REM, existe un estado cognitivo particular, los sueños, asociado a una disminución del control de algunas variables fisiológicas como la temperatura, la frecuencia cardíaca y respiratoria. La variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) medida a partir del electrocardiograma (ECG), constituye un correlato de su regulación autonómica. Con el objetivo de evaluar el impacto de la privación aguda de sueño sobre la VFC, se realizaron registros polisomnográficos y electrocardiográficos basales utilizando al gato como modelo animal, durante la privación de sueño y el período post-privación. Para ello se instrumentaron dos estrategias de privación de sueño: privación total de sueño y privación selectiva de sueño REM. Se analizaron diversos parámetros de la VFC en los estados de vigilia (W), sueño NREM y REM. En el dominio del tiempo se evaluó: intervalo RR promedio, desvío estándar de los intervalos RR normales (*“standard deviation of normal R-R intervals”* SDNN), el cual refleja todos los componentes cíclicos de la variabilidad, y rMSSD (*“root mean squared difference of successive intervals”*) que permite estimar variaciones a corto plazo de la frecuencia. En el dominio de la frecuencia (obtenidas mediante la transformada rápida de Fourier) se evaluó: potencia de las bandas *“Low Frequency”* (LF), considerada tanto un marcador de la modulación simpática como un parámetro que incluye influencias vagales como simpáticas, y *“High Frequency”* (HF), determinada principalmente por la actividad vagal sobre el corazón, la frecuencia del “pico” o punto máximo de dichas bandas. También se estudió la relación LF/HF, relacionada con la modulación simpática. A su vez, se analizó la dinámica no-lineal de la VFC mediante el análisis de Poincaré, obteniendo los índices SD1, que permite valorar la variabilidad a corto plazo y SD2 que cuantifica la variabilidad total de los intervalos R-R.

De los resultados se destaca que, en comparación con la W basal, durante la privación total de sueño aumentó el SDNN, la LF y SD2. En comparación con el sueño NREM basal, la potencia LF fue mayor durante el sueño NREM luego de su privación, y el índice LF/HF fue mayor durante el sueño NREM asociado a la privación de sueño REM.

En este trabajo describimos que la VFC está fuertemente afectada tanto por el sueño como por su privación. Nuevas aproximaciones experimentales son necesarias para comprender los mecanismos neurales que subyacen a las alteraciones de la VFC gatilladas por la privación de sueño.

**DOCUMENTO PARA ELABORAR ACTA EMITIDA POR BEDELÍA DE LA  
ESCUELA DE GRADUADOS**

**TESIS DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS**

Título: "Efecto de la privación de sueño sobre la variabilidad de la frecuencia cardíaca."

**De: Dra. Noelia Velásquez**  
**Director Académico:** Dr. Pablo Torterolo.  
**Tutor de especialidad:** Dr. Eduardo R. Migliaro

**Día: martes 13 de diciembre 2022**  
**Hora: 11 am**

**MODALIDAD PRESENCIAL**


- Presencial Facultad de Medicina. Sala de conferencias del Departamento de Biofísica.

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL:**

Presidente PHD Paola Contreras  
Vocales: Doctores Cristina Vázquez, Giancarlo Vanini y Ana C. Mussetti.

Fallo del Tribunal Nota<sup>1</sup> Muy satisfactorio Escala numérica<sup>2</sup>: 9 -

JUICIO COMPLEMENTARIO ESCRITO (HASTA UN MÁXIMO DE 300 PALABRAS)

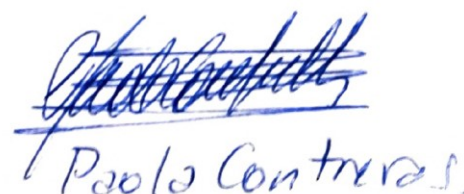
  
ACTA MUE47

FIRMA DE LOS INTEGRANTES DEL TRIBUNAL.



G. Vanini

  
C. VÁZQUEZ

  
Paola Contreras.

- <sup>1</sup>Excelente. Muy satisfactorio. Satisfactorio. Aceptable y No aprobado.
- <sup>2</sup>Utilizar escala de 1 al 12

## **Agradecimientos**

A Pablo Torterolo, por permitir mi acercamiento al laboratorio, por enseñarme en el proceso de investigación y transmitirme entusiasmo para seguir formándome. Por su rol de tutor e investigador en cualquier momento y horario. Agradezco su paciencia y respeto a todos mis contratiempos, así como a las opciones académicas y personales.

A Eduardo Migliaro, por su permanente disposición en la orientación y ayuda para el desarrollo de esta tesis.

A Santiago Castro, Matías Cavelli y Joaquín González, por su colaboración en la realización de los experimentos, análisis y en la comprensión del tema.

A Luciana Benedetto, por su amistad, apoyo académico y humano en mi transitar por el laboratorio.

A todo el equipo del Laboratorio de Sueño por el aprendizaje recibido y los momentos compartidos.

A Augusto mi esposo, por ser sostén en cada etapa de mi formación, por alentar y apoyar cada intento de aprender de lo que me gusta. A mis hijos Mateo y Cecilia, por estimular con su presencia mi deseo de superación y por todas las horas que no pude dedicarles en forma completa para culminar este trabajo. A mis padres por la confianza y por la valoración del esfuerzo. A Dios, por poner todas estas personas en mi camino y permitirme comprender una pequeña parte de la complejidad que nos rodea. A los amigos por el ánimo.

A las instituciones que financiaron y/o han hecho posible la realización de este trabajo: Facultad de Medicina UdelaR, Agencia Nacional de Investigación e Innovación.

## Índice

Abreviaturas.....	6
<b>1. Introducción.....</b>	<b>7</b>
1.1. Ciclo sueño – vigilia.....	7
1.2. Variabilidad de la frecuencia cardíaca.....	7
1.2.1. Variabilidad de la frecuencia cardíaca durante el sueño.....	10
1.3 Privación y rebote de sueño.....	10
1.4. Privación de sueño y VFC.....	11
1.4.1 Privación total y selectiva de sueño.....	11
1.4.2 Período post-privación.....	11
<b>2. Estrategia de investigación.....</b>	<b>13</b>
2.1 Hipótesis de trabajo.....	13
2.2 Objetivos.....	13
<b>3. Materiales y métodos.....</b>	<b>14</b>
3.1 Procedimientos quirúrgicos.....	14
3.2 Sesiones experimentales.....	15
3.3 Análisis de datos.....	17
<b>4. Resultados.....</b>	<b>19</b>
4.1 Sueño y vigilia.....	19
4.1.1 Registros de sueño y vigilia en condiciones basales.....	19
4.1.2 VFC en condiciones basales.....	20
4.2 Privación total de sueño.....	23
4.2.1 Privación total de sueño.....	23
4.2.2 VFC durante la privación total de sueño.....	24
4.2.3 Período post-privación total de sueño.....	27
4.2.4 VFC durante el período post-privación total de sueño.....	27
4.3 Privación selectiva de sueño REM.....	30
4.3.1 VFC durante la privación selectiva de sueño REM.....	30
4.3.2 Período post-privación selectiva de sueño REM.....	31
4.3.3 VFC durante el período post-privación selectiva de sueño REM.....	32
<b>5. Discusión.....</b>	<b>35</b>
5.1 Consideraciones técnicas.....	35
5.2 VFC durante la vigilia y el sueño.....	35
5.3 Privación total de sueño.....	36
5.4 Privación selectiva de sueño REM.....	37
5.5 El sistema nervioso autónomo como determinante de la VFC durante el sueño y su privación .....	37
<b>6. Conclusiones.....</b>	<b>40</b>
<b>7. Perspectivas.....</b>	<b>40</b>
<b>8. Referencias bibliográficas.....</b>	<b>41</b>
<b>9. Anexos.....</b>	<b>49</b>
9.1 Anexo 1. El sueño: funciones, regulación y mecanismos.....	49
9.1.1 Funciones del sueño.....	49
9.1.2 Regulación del ciclo sueño - vigilia.....	49
9.1.3 Sistemas que participan en la generación de sueño y vigilia.....	49
9.2 Anexo 2 - Sistema nervioso autónomo y actividad cardíaca.....	53
9.2.1 Regulación periférica y central de la frecuencia cardíaca.....	54

## Abreviaturas

Ach: Acetil-colina  
BF: cerebro basal anterior  
CPM: ciclos por minuto  
ECG: electrocardiograma  
ECV: enfermedades cardiovascular  
EEG: electroencefalograma  
EMG: electromiograma  
EOG: electro-oculograma  
FC: frecuencia cardíaca  
FR: formación reticulada  
HF: "High Frequency"  
LC: *locus ceruleus*  
LDT-PPT: núcleo tegmental latero-dorsal y pedúnculo-pontino  
LF: "Low Frequency"  
MVe: núcleos vestibulares mediales  
NREM: sueño no REM.  
NREM-PRIV REM: sueño NREM durante privación de REM  
NREM post-PT: sueño NREM luego de la privación total de sueño  
NTS: núcleo del tracto solitario  
PA: presión arterial  
PBN: núcleo parabraquial pontino  
PGO: ondas ponto-geniculo-occipitales  
POA: área preóptica  
PPT: tegmento pedúnculo pontino  
PVN: núcleo paraventricular del hipotálamo  
PRIV REM: privación selectiva de sueño REM  
PT: privación total de sueño  
REM: rapid eye movements  
REM post-PRIV REM: sueño REM luego de la privación selectiva de sueño REM  
RS: restricción de sueño  
RVLM: médula rostral ventrolateral  
SBR: sensibilidad barorrefleja  
SD1: eje menor o corto de la elipse del gráfico de Poincaré.  
SD2: eje mayor o largo de la elipse del gráfico de Poincaré.  
SDNN: desvío estándar entre intervalos N-N  
SGPA: sustancia gris periacueductal  
SN: sustancia nigra  
SNA: sistema nervioso autónomo  
SNC: sistema nervioso central  
VFC: variabilidad de la frecuencia cardíaca  
VLM: médula ventrolateral  
VTA: área tegmental ventral  
W: vigilia

## 1. Introducción

### 1.1 Ciclo sueño - vigilia

El ciclo sueño- vigilia es el ritmo circadiano más evidente en los mamíferos y las aves. El sueño se puede definir como un estado comportamental reversible donde la respuesta y la interacción con el medio se encuentran disminuidas. Presenta un aumento del umbral de reacción a estímulos externos, una disminución de la actividad y tono muscular, así como la adopción de una posición adecuada para conservar el calor<sup>1</sup>. El sueño no es homogéneo; durante este se pueden distinguir dos estados comportamentales diferentes: el sueño no-REM o lento (NREM) y el sueño REM (REM por su sigla en inglés "*rapid eye movements*", movimientos oculares rápidos). La polisomnografía es la herramienta básica para distinguir estos estados tanto en humanos como en animales de experimentación. Ésta consiste en el registro simultáneo del electroencefalograma (EEG, o registro de la actividad bioeléctrica cerebral), el electromiograma (EMG, actividad eléctrica muscular) y el electrooculograma (EOG, que registra los movimientos oculares).

El estado de vigilia (W) se caracteriza por una interacción óptima con el ambiente, en donde se desarrollan diversos comportamientos necesarios para la supervivencia. En el ser humano este se asocia con un estado de consciencia caracterizado por la percepción de estímulos provenientes del medio que nos rodea y de estímulos generados internamente<sup>2</sup>. En el EEG se observan ondas de alta frecuencia y baja amplitud<sup>2</sup>. Desde la W se produce la transición al sueño NREM, y de éste se alcanza el sueño REM. En el EEG durante el sueño NREM se observan ondas lentas de frecuencia delta (0,5-3 Hz), husos de sueño y complejos K. De acuerdo a ello se pueden definir distintas etapas. En el gato (modelo animal de este trabajo), se describen la etapa 1 (S1 del NREM) que se caracteriza por la aparición de las ondas lentas de menor amplitud, mezcladas con breves periodos de actividad theta (4 a 8 Hz), y la etapa 2 (S2 del NREM) que se define principalmente por la presencia de husos de sueño y ondas lentas de mayor amplitud. En el sueño NREM ocurre un aumento tónico de la actividad parasimpática que determina cambios característicos de la actividad visceral (disminución de la frecuencia cardíaca, de la presión arterial, etc.). En las etapas más profundas del NREM la actividad cognitiva es mínima (sueños o actividad onírica)<sup>3</sup>. Desde el sueño NREM se ingresa al sueño REM, donde principalmente ocurren los sueños. En este estado el EEG es similar a la W, de allí deriva su nombre de sueño paradójico. El EMG disminuye su actividad por la atonía muscular característica de esta etapa<sup>4</sup>. La atonía muscular es mediada por la inhibición que ejerce la formación reticular bulbar sobre las motoneuronas. En el sueño REM también hay importantes cambios fásicos en la actividad autonómica<sup>5</sup>. A su vez, se observan las ondas ponto-geniculo-occipitales (PGO), que se generan a nivel pontino, registrándose también en el núcleo geniculado lateral y corteza occipital.

Las funciones del sueño y su regulación se describen con más detalle en el Anexo 9.1.

### 1.2 Variabilidad de la frecuencia cardíaca

En las últimas décadas se ha desarrollado ampliamente el análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) en condiciones fisiológicas y en diferentes patologías<sup>6,7</sup>. A partir del ECG se detectan las ondas QRS y se cuantifican las duraciones de los intervalos R-R consecutivos. A partir de las duraciones de los intervalos R-R se obtienen los valores de frecuencia cardíaca

instantánea, definida como la frecuencia cardíaca calculada a partir de un único intervalo y se cuantifican las variaciones de los intervalos R-R consecutivos. La duración de los intervalos RR se puede graficar en función del tiempo, lo que se denomina tacograma. La variación que se aprecia en el tacograma, con intervalos RR con duraciones mayores o menores del intervalo promedio, es la VFC<sup>7</sup>.

La VFC puede analizarse tanto en el dominio del tiempo como en el dominio de la frecuencia. Dada la complejidad de las señales biológicas, también se pueden realizar análisis con métodos no lineales que permiten comprender la dinámica de estas fluctuaciones<sup>8,9</sup>. En forma general, la pérdida de la complejidad (aumento de la regularidad y disminución de la variabilidad) se asocia a la enfermedad, y un tacograma complejo tiende a ser saludable, ya que la no linealidad de los mecanismos de control fisiológico ofrece robustez y flexibilidad a los sistemas, permitiéndoles adaptarse al cambio<sup>10-13</sup>. Un ejemplo de ello pueden ser las variaciones en la frecuencia de descarga del nodo sinusal que acompañan a la respiración, con un acortamiento de los ciclos cardiacos durante la inspiración (aumento de la frecuencia cardíaca) y una prolongación de los mismos durante la espiración (disminución de la frecuencia cardíaca). Este fenómeno, es llamado arritmia sinusal respiratoria. En el cuadro 1 se describen las variables para análisis de VFC utilizadas en este trabajo.

#### **Cuadro 1- ANÁLISIS DE VFC**

##### Análisis en el dominio del tiempo

Algunas variables en el dominio del tiempo son: duración del intervalo RR (que luego de haber sido filtrados o corregidos para sacar del cálculo los latidos no sinusales, los falsos positivos y negativos de la detección automática se definen intervalo N-N, o intervalo RR normales), la media del intervalo R-R, media de la frecuencia cardíaca, diferencia entre el mayor y menor intervalo R-R. Una variable simple de calcular es el desvío estándar de los intervalos RR normales (SDNN), la cual constituye la raíz cuadrada de la varianza. La varianza, es matemáticamente equivalente a la potencia total del análisis espectral, por lo que el SDNN refleja todos los componentes cíclicos de la variabilidad<sup>7</sup>. Otra variable que se calcula es la raíz cuadrada de la media de las diferencias cuadradas entre intervalos sucesivos (rMSSD). Esta medida estima variaciones a corto plazo de la frecuencia<sup>7</sup>.

##### Análisis en el dominio de frecuencia

La potencia o densidad espectral de potencia ("*Power Spectral Density*"), se calcula por medio de métodos de análisis espectral del tacograma como la transformación rápida de Fourier. Esta es una representación de la distribución de la energía o la amplitud de una señal, en las distintas frecuencias de las que está formada. Se pueden discriminar las variaciones más fácilmente que en el dominio del tiempo, permitiendo la comparación entre poblaciones. A partir del análisis de Fourier del tacograma se pueden distinguir cuatro bandas de frecuencia dependiendo de la longitud del registro: Frecuencia ultra baja ("*Ultra Low Frequency*", ULF, <0,003 Hz), frecuencia muy baja ("*Very Low Frequency*", VLF, 0,003 a 0,04 Hz), no analizadas en este trabajo, bandas de baja frecuencia ("*Low Frequency*", LF, 0,04 a 0,15 Hz), banda de alta frecuencia ("*High Frequency*", HF, 0,15-0,4 Hz). La medida se expresa en unidades de potencia: ms<sup>2</sup>.

El componente LF es considerado por algunos autores como marcador de la modulación simpática y por otros como un parámetro que incluye tanto influencias vagales como simpáticas<sup>14-16</sup>.

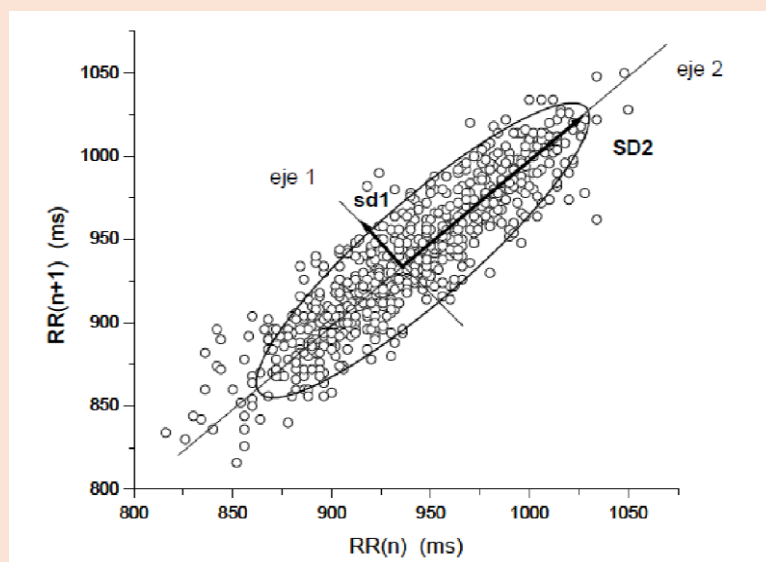


El componente HF se explica principalmente por la actividad vagal sobre el corazón. Generalmente el pico de HF se encuentra a una frecuencia coincidente con la frecuencia respiratoria, indicando que gran parte de estas variaciones de alta frecuencia están determinadas por la respiración<sup>17</sup>. La HF se encuentra correlacionada con RMSSD<sup>18,19</sup>.

Los componentes de potencia también pueden medirse en unidades normalizadas (n.u.) que representan el valor relativo de cada componente de potencia en proporción a la potencia total. La representación de LFnu y HFnu (no analizadas en este trabajo), enfatiza el control y el comportamiento equilibrado de las dos ramas del sistema autónomo. La relación LF/HF es un índice relacionado con la modulación simpática, refleja el balance autonómico de forma similar a LFnu y HFnu<sup>20</sup>.

#### Análisis con métodos no lineales.

Entre los métodos no lineales, utilizamos el análisis de Poincaré. Mediante éste se grafica la duración del intervalo R-R en función de la duración del intervalo R-R precedente. La nube obtenida en el gráfico se circunscribe por una elipse, cuyo centro coincide con el centro de los puntos (media de los intervalos R-R). El sistema de coordenadas  $x_1$  y  $x_2$  se establece en  $45^\circ$  al eje normal. La desviación estándar de la distancia de los puntos de cada eje determina el ancho (SD1) y la longitud (SD2) de la elipse. La variabilidad a corto plazo cuantificada como SD1 (eje menor de la elipse o “ancho” para otros autores) refleja principalmente la actividad eferente parasimpática sobre el nodo sinusal. SD1 presenta una fuerte correlación con HF y con el RMSSD<sup>21</sup>. La medida SD2 (eje mayor de la elipse o “largo” para otros autores) cuantifica la variabilidad total de los intervalos R-R. Se ha encontrado una muy buena correlación entre SDNN y SD2 en sujetos sanos. Se cree que SD2 refleja las modulaciones de ambas ramas del sistema nervioso autónomo sobre el nódulo sinusal<sup>22,23</sup>. La Figura 1 muestra un ejemplo de gráfico de Poincaré<sup>24</sup>.



**Figura 1.** Método de cuantificación del gráfico de Poincaré propuesto por Tulppo et al<sup>25</sup>. Los ejes 1 y 2 se cruzan en el valor de intervalo RR medio, que en este caso es 936,4 (N=368).

### 1.2.1 Variabilidad de la frecuencia cardíaca durante el sueño

La frecuencia cardíaca (FC) disminuye durante la transición de la W al sueño NREM. Esto es causado principalmente por un aumento de la actividad parasimpática. También se observa una depresión de la actividad simpática durante el sueño NREM<sup>26-28</sup>. Trabajos previos de nuestro grupo utilizando el gato como modelo animal, muestran que comparado con la W, durante el sueño NREM hay oscilaciones regulares a nivel del tacograma, una disminución de la LF y aumento de actividad HF. El tacograma y la actividad respiratoria están acoplados en esta etapa<sup>5</sup>.

El sueño REM está asociado con grandes fluctuaciones de la PA, de la FC y de la actividad simpática<sup>29-32</sup>. La PA y la FC aumentan unos minutos antes del inicio del sueño REM. La FC se vuelve irregular, con aumentos repentinos que se acompañan de aumentos de la PA<sup>33,34</sup>, prevaleciendo un control cardiovascular integrado, no barorreflejo, análogo a la reacción de defensa<sup>35</sup> o el inicio del ejercicio dinámico<sup>36</sup>. Esto se asocia con aumento de la potencia de la LF, e inestabilidad o aumento de la tasa de descarga simpática<sup>29,37</sup>, la cual es mayor respecto a la vigilia tranquila<sup>5</sup>.

En suma, la VFC está muy afectada tanto durante el sueño NREM como en el sueño REM. Una sinopsis de la regulación autónoma de la actividad cardíaca se expone en el Anexo 9.2

### 1.3 Privación y rebote de sueño

En humanos, la privación aguda de sueño se refiere a períodos de vigilia que se extienden más allá de 16-18 horas (hs), mientras que la restricción de sueño (RS) se refiere a no dormir lo suficiente cada 24 hs, durante una o varias noches. La RS es un problema social; entre los factores que la inducen se destaca la gran estimulación lumínica generada por las pantallas, así como las demandas laborales y recreativas. En otras palabras, los estilos de vida que requieren actividad nocturna son la causa principal de esta condición. Actualmente, el tiempo promedio de sueño en 24 hs de un adulto joven se estima en aproximadamente 7 hs, lo que sugiere una reducción del tiempo de sueño de alrededor de 1 hora en comparación con hace 50 años<sup>38</sup>.

Muchas facetas de la función de vigilia se ven afectadas por la falta de sueño, entre ellas se destacan una reducción de la velocidad de procesamiento cognitivo<sup>39</sup>, incluyendo pensamiento constructivo<sup>40</sup>, memoria verbal<sup>41</sup> y memoria de trabajo espacial<sup>42</sup>, así como una mayor tendencia a los recuerdos falsos<sup>43</sup>. También se ven afectadas las funciones ejecutivas, asociado a la ejecución de conductas de riesgo y fallas en el razonamiento moral<sup>44</sup>. La RS también produce un aumento de la somnolencia, empeoramiento del estado de ánimo y del procesamiento emocional (incluida la lectura de expresiones emocionales positivas), con un umbral reducido para el estrés y reacciones elevadas ante el mismo<sup>45,46</sup>. A medida que se acumula la falta de sueño, los microsueños o lapsus de atención se hacen más frecuentes y de mayor duración (pudiendo superar los 10 segundos)<sup>47-49</sup>. Se ha sugerido que estos lapsus implican cambios en la actividad neuronal a nivel cortical frontal y cortezas sensoriales secundarias, así como a nivel talámico. Estos lapsus ocurren de manera impredecible, llevando a una “inestabilidad” del estado de vigilia<sup>48,50-52</sup>.

En lo que respecta a los modelos experimentales, la privación aguda de sueño puede ser total (PT), manteniéndose el sujeto en W, o selectiva de sueño REM (PRIV REM), permitiendo por lo tanto que haya sueño NREM. Existen diferentes protocolos según el modelo experimental a utilizar. En nuestro laboratorio se han realizado experimentos de PT y PRIV REM en gatos monitorizados por registros polisomnográficos, utilizando como método sonidos de baja intensidad o estímulos somestésicos (“*gentle handling*”)<sup>53,54</sup>.

La PT genera un aumento posterior en la duración del NREM y REM (rebote)<sup>55</sup>. Este rebote es primero de NREM caracterizado por gran amplitud de las ondas lentas del EEG, y posteriormente aumenta la cantidad de REM.

El aumento de la actividad del EEG de alta amplitud y baja frecuencia (también conocida como actividad "delta") durante el NREM es una característica importante de la recuperación del sueño<sup>56,57</sup>. El sueño con gran actividad delta es particularmente profundo sugerido por su umbral de despertar relativamente alto<sup>58</sup>. También se han descrito aumentos de la actividad delta post-privación en ratas<sup>59</sup>, gatos<sup>60</sup>, perros<sup>61</sup> y conejos<sup>62</sup>.

En humanos, luego de la PT, el tiempo transcurrido en sueño REM en comparación con el valor inicial, generalmente se reduce en la primera noche y aumenta en la segunda noche de recuperación. Este patrón ha llevado a algunos autores a describir que el rebote de REM se retrasa<sup>63</sup>. En animales la PT lleva a un rebote del REM, siendo dependiente de cuán prolongada sea la PT. Cuando es breve produce poco o ningún rebote del REM, pero cuando es prolongada el rebote de REM es mayor<sup>64-66</sup>. En cambio, la PRIV REM tiende a producir un marcado rebote de este estado<sup>67</sup>.

En suma, el control homeostático del sueño determina un "rebote" principalmente de sueño NREM luego de la PT, y de sueño REM luego de la PRIV-REM.

## **1.4 Privación de sueño y VFC**

### **1.4.1 Privación total de sueño y selectiva de sueño REM**

Estudios epidemiológicos relacionan la corta duración de sueño con el mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular (ECV)<sup>68</sup>. La RS determinaría un equilibrio deteriorado del SNA, dado por la reducción de la actividad parasimpática y aumento de la actividad simpática<sup>69</sup>, con disminución de VFC total<sup>70,71</sup>, asociado a una disminución de HF, aumento de LF y aumento del índice LF/HF. La reducción significativa de la VFC representa una incapacidad del sistema cardiovascular para reaccionar y adaptarse<sup>72</sup>. En relación a esto, Zhong et al.<sup>72</sup> observaron una disminución de la sensibilidad barorrefleja (SBR) en sujetos adultos normales con 12 hs de PT. A su vez, Grimaldi et al.<sup>73</sup> refieren que la RS provoca mayores aumentos en la FC nocturna, así como mayores reducciones en los índices vagales de VFC cuando se asocia con desalineación circadiana. Estudios en ratas también mostraron que distintos tiempos de PT generan incrementos de la FC e hipotensión<sup>74,75</sup>.

No hemos encontrado estudios en humanos que evalúen la VFC durante la PRIV REM. En ratas, Yang et al.<sup>76</sup> evaluaron la influencia de 72 hs de PRIV REM; todas las ratas expuestas a PRIV REM presentaron un aumento de la PA y taquicardia con aumentos significativos del componente LF. Otros autores también encontraron que el período de PRIV REM se acompaña de aumento significativo de FC y/o PA, asociado con un deterioro del control barorreflejo de la PA acompañado de un tono vagal disminuido y/o aumento del tono simpático<sup>77-79</sup>.

Se puede resumir que la VFC estaría afectada tanto durante la PT como la PRIV REM, indicando por lo tanto una alteración en el balance autonómico.

### **1.4.2 Período post-privación**

Chen et al.<sup>71</sup> reportan un aumento de la potencia LF, del índice LF/HF así como una disminución de la potencia HF luego de 24 hs de PT en humanos. Zhong et al.<sup>72</sup> encontraron resultados similares, así como una disminución de la SBR durante la W luego de 12 hs de PT, observando que estas modificaciones autonómicas no cambiaban con mayores tiempos de privación. Glos et al.<sup>80</sup> encontraron que después de 40 hs de W continua, el rebote de sueño NREM se acompaña de una LF/HF reducida.

Por otra parte, experimentos en ratones mostraron que luego de 6 hs de PT, en el rebote de sueño NREM posterior hubo un aumento en la potencia delta y la HF, mientras que la LF fue menor en relación con el control<sup>81</sup>.

Experimentos en ratas de Radulovacki et al.<sup>82</sup> mostraron un aumento de la FC en W, NREM y REM luego de 48 hs de PRIV REM comparado con estos mismos estados en condiciones basales. También describieron una disminución en la PA durante el sueño REM luego de la PRIV REM. Sin embargo, Yang et al<sup>76</sup> en la misma especie mostraron que en comparación con la PRIV REM y con el control, durante el período post-PRIV REM aumenta la potencia HF y disminuye la FC.

Resumiendo, experimentos en humanos y especialmente en modelos animales sugieren que durante el período posterior a la PT o PRIV REM, la VFC se mantiene afectada.

## 2. Estrategia de investigación

El gato es un modelo animal clásico para la investigación del sueño. Esta especie pasa casi 14 hs por día durmiendo, teniendo un hábito crepuscular con preferencia de sueño nocturno. Sus estados de sueño son consolidados, lo que permite algunos estudios que son difíciles de realizar en roedores por presentar ciclos de sueño de corta duración. Además, el gato exhibe débiles influencias sobre el ritmo circadiano en comparación con otras especies<sup>83</sup>; por lo tanto, este modelo permite diferenciar los cambios propios del sueño sobre los parámetros cardiovasculares respecto a los generados por la regulación circadiana, lo que evita complicaciones en la interpretación de los resultados<sup>84</sup>. A su vez, en gatos en los que se les suprime experimentalmente la atonía del sueño REM, exhiben el llamado “comportamiento onírico”, sugiriendo que son capaces de soñar<sup>85</sup>.

Nuestro laboratorio tiene amplia experiencia en el trabajo con este modelo animal, incluso con privación de sueño<sup>53,54</sup>. Nuestro equipo también ha estudiado la VFC en condiciones basales en gatos, especie que permite desde el punto de vista cardiovascular, con pequeños ajustes (la FC promedio del gato está en torno a los 150 latidos por minuto (lpm), 110-240), utilizar tiempos de medición de VFC similar a los empleados en humanos<sup>5,86</sup>.

Los estudios sobre los efectos de la privación de sueño sobre la VFC son escasos, principalmente los que utilizan privación selectiva de sueño REM. No hay trabajos en gatos que estudien la VFC ni durante la PT, PRIV REM o en el período post-privación.

Por todo ello, es de interés conocer en este modelo animal, cuál es el efecto que presenta la privación aguda de sueño sobre el SNA, utilizando la VFC como su correlato fisiológico.

### 2.1 Hipótesis de trabajo

- 1) En comparación con las condiciones basales, la PT y la PRIV REM alterarán los parámetros de VFC.
- 2) La VFC se mantendrá afectada durante los períodos post-PT y post-PRIV REM.

### 2.2 Objetivos

#### Objetivo general

Evaluar el impacto de la privación aguda de sueño sobre la VFC.

#### Objetivos específicos

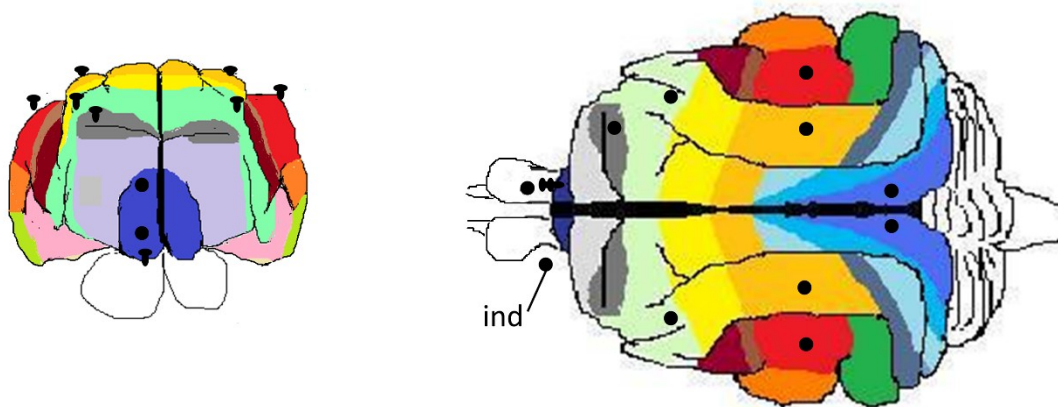
- ✓ Analizar la VFC durante el ciclo sueño-vigilia basal.
- ✓ Evaluar los cambios en la VFC, durante la PT y en el período post-PT.
- ✓ Estudiar los cambios en la VFC, durante la PRIV REM, así como en el período post-PRIV REM.

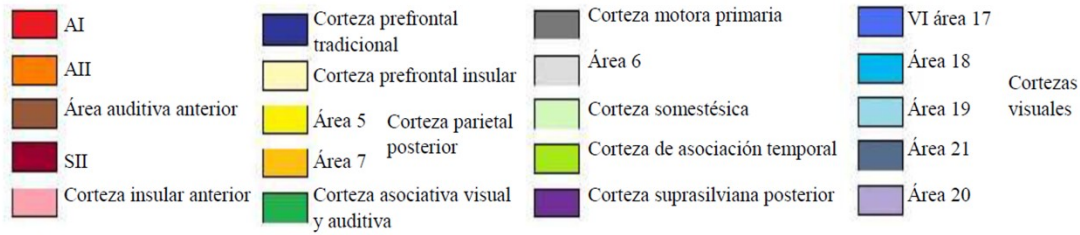
### 3. Materiales y métodos

Los experimentos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina. Se utilizaron 5 gatos adultos, obtenidos de la Unidad de Reactivos Biológicos de Experimentación (URBE), los que permanecieron en jaulas individuales, con el ciclo luz-oscuridad y temperatura controladas. Los procedimientos a realizar se llevaron a cabo de acuerdo con la "Guía para el uso y cuidado de animales de laboratorio" (8th edition, National Academy Press, Washington D. C., 2010) y avalado por la Comisión Honoraria para la Experimentación Animal (CHEA) (protocolo N° 270, Expediente N° 070153-000324-16, Facultad de Medicina, UdelaR). Se realizó el mayor esfuerzo para minimizar el número de animales en el estudio, y se tomaron las medidas adecuadas para impedir dolor o incomodidad de estos.

#### 3.1 Procedimientos quirúrgicos

Los procedimientos fueron similares a los utilizados previamente por nuestro grupo<sup>5,87-89</sup>. Brevemente, antes de la anestesia los animales fueron tratados con Xilazina (2,2 mg/Kg i/m), Atropina (0,05 mg/Kg i/m) y antibióticos (ceftriaxona 50 mg/Kg i/m). La anestesia fue inducida con Ketamina (15 mg/Kg i/m) y mantenida con una mezcla gaseosa de Isoflurano (1-3%) en oxígeno. La cabeza del animal fue posicionada en un aparato estereotáctico y se expuso la calota. Se realizaron perforaciones en el cráneo y se colocaron macroelectrodos de acero inoxidable (1,4 mm de diámetro) siguiendo las coordenadas estereotácticas<sup>90</sup> en diversas áreas corticales para registro del electrocorticograma, denominado en la presente Tesis como EEG. La Figura 2, muestra las áreas corticales del cerebro del gato, y los sitios de implante de electrodos. A su vez, se colocó un electrodo indiferente en la calota sobre el seno frontal y dos electrodos en la porción orbital del hueso frontal para el registro bipolar del EOG. Utilizando cemento acrílico se fijó en la calota un conector donde se sueldan los electrodos implantados, así como también barras de sujeción para situar al animal en el aparato estereotáctico durante el registro. Finalizada la cirugía, se administró un analgésico cada 12 hs durante 48 hs (Buprenex, 0,01 mg/Kg i/m). Los márgenes de incisión se mantuvieron limpios y se aplicó antibiótico tópico diariamente. Una vez recuperados de la cirugía, los animales fueron adaptados a las condiciones semi-restringidas de registro por un período de no menos de dos semanas, dependiendo del proceso de cada animal en particular. Se consideró adaptación completa del animal cuando éste presentaba durante el registro todas las etapas de sueño. Cabe destacar que estos animales forman parte de otros proyectos de investigación del equipo.





**Figura 2.** Áreas corticales en cerebro de gato y topografía de electrodos implantados. Ind, electrodo indiferente localizado en seno frontal izquierdo.

### 3.2 Sesiones experimentales

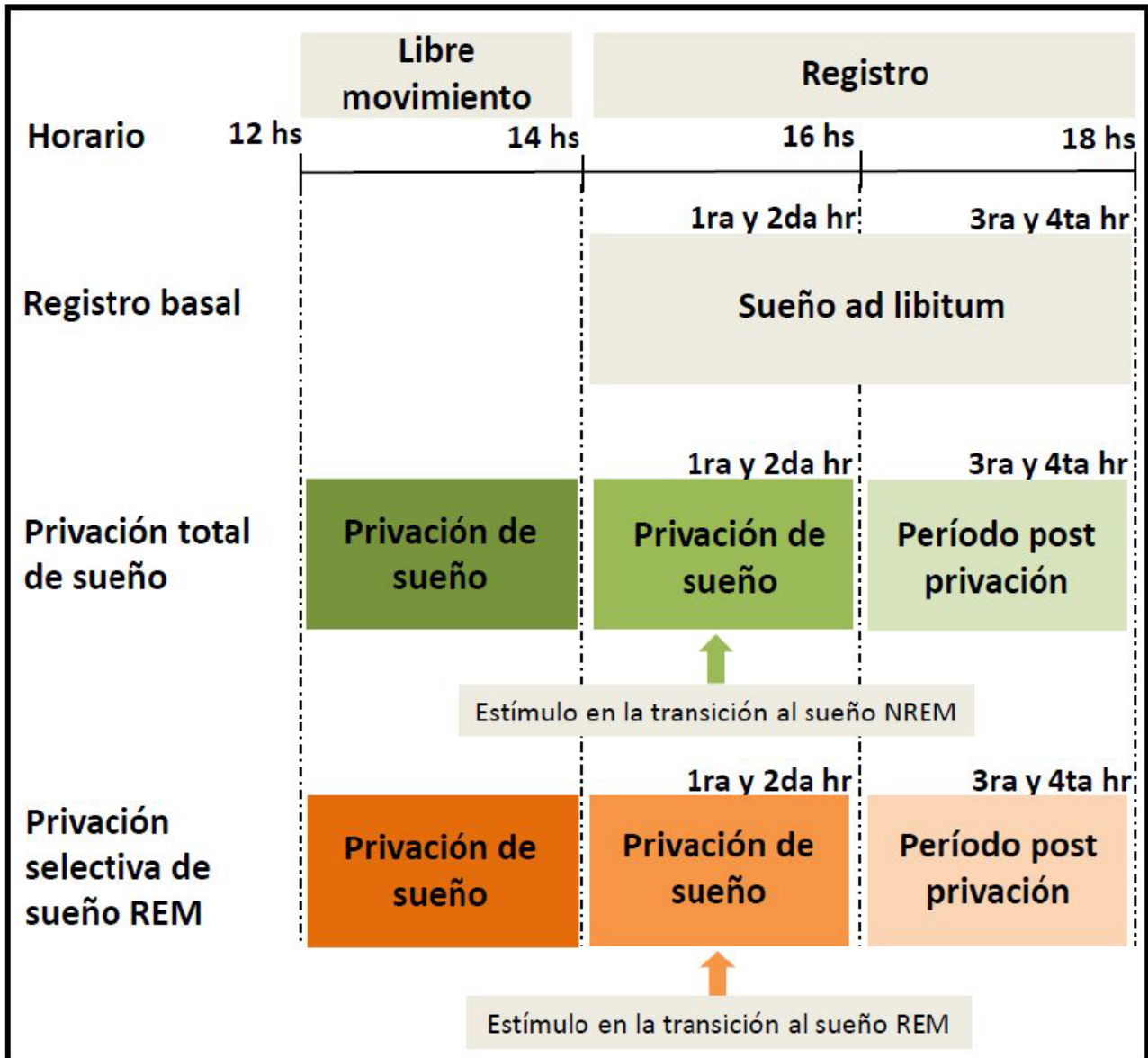
Las sesiones experimentales tuvieron una duración de 6 hs, en condiciones semi-restringidas, en donde se registró el EEG, EMG y ECG. En cada sesión, luego de rasurada la piel y utilizando pasta conductora, para el registro del EMG se colocaron dos electrodos sobre la piel de los músculos de la nuca. Para el registro del ECG, se posicionaron dos electrodos sobre la superficie cutánea a nivel precordial, configurando una derivación bipolar que permitió apreciar adecuadamente las ondas R.

Para el registro basal el animal fue estudiado en condiciones normales sin ningún tipo de intervención durante 4 hs. La privación de sueño se realizó mediante estímulos sonoros de frecuencia variable, de intensidad constante (aproximadamente 70 dB sound pressure level, SPL).

Durante la PT, luego de 2 hs de privación en condiciones de libre movimiento, la estimulación auditiva se realizó durante las primeras 2 hs de registro cuando el animal comienza la transición al sueño NREM. Las segundas 2 hs, se permitió que el animal duerma libremente (período post-PT) (Figura 3).

En la PRIV REM, luego de 2 hs de privación en condiciones de libre movimiento, durante las primeras 2 hs de registro se aplicó el estímulo inmediatamente de que el animal entra en transición al sueño REM (el animal puede dormir en sueño NREM). Las segundas 2 hs, se permitió que el animal duerma libremente (período post-PRIV REM) (Figura 3).

Se realizó una sesión experimental para cada condición experimental por animal, siendo estas sesiones separadas al menos por 48 hs.



**Figura 3. Protocolo experimental.** En el horario de 12 a 14 hs la privación de sueño se realiza en condiciones de libre movimiento (sin registro, dejando que los animales exploren libremente el laboratorio), analizando solamente el comportamiento. En el horario de 14 a 18 hs se realiza el registro en condiciones semirestringidas.

Las señales bioeléctricas se amplificaron (x 1000) y filtraron entre 0,1 y 500 Hz. Estas se digitalizaron (frecuencia de muestreo 1024 Hz, resolución 16 bits) y almacenaron para su posterior análisis en una PC, utilizando un convertor análogo digital (*Cambridge Electronic Design*) y el *Software Spike 2*.



### 3.3 Análisis de datos

Se llevó a cabo un estudio de tipo analítico, experimental. En la Tabla 1 se esquematizan las variables analizadas en este trabajo.

<b>VARIABLES SUEÑO</b>
Tiempos en cada estado (W/NREM/REM)
<b>VARIABLES VFC</b>
Intervalo RR
Desvío estándar de los intervalos RR (SDNN)
Raíz cuadrada de la media de las diferencias cuadradas entre intervalos sucesivos (rMSSD)
Pico LF
Pico HF
Potencia LF
Potencia HF
Índice LF/HF
SD1
SD2

**Tabla 1.** Variables utilizadas en este trabajo. Las frecuencias VLF y ULF no fueron utilizadas en este trabajo dado requerimiento de ventanas temporales mayores a las utilizadas.

Los estados de W, S1, S2 y sueño REM fueron determinados en forma estandarizada<sup>91</sup>, en ventanas de 10 segundos (Figura 3). S1 y S2 se agruparon como sueño NREM. Los tiempos de vigilia y sueño se describen como el porcentaje del tiempo de registro en cada condición. Se compararon los tiempos de vigilia y sueño entre el primer y segundo bloque de 2 hs, así como la efectividad de la privación de sueño (PT o PRIV REM), o del “rebote” de sueño respecto a los tiempos basales (entre bloques de 2 hs correspondientes al mismo horario). Al igual que en trabajos anteriores de nuestro grupo<sup>54,92-97</sup>, para esto se utilizaron pruebas paramétricas como el *Test de Student* a una cola, mediante el *Software GraphPad Prism 6* (Tabla 2).

La VFC fue analizada en forma similar a estudios previos de nuestro grupo<sup>5,89,98</sup>. Se construyó un tacograma a partir de los intervalos R-R del ECG, utilizando el *software Spike-2*, el cual permite la obtención gráfica de la frecuencia cardíaca en función del tiempo. Para el análisis cuantitativo de VFC se exportaron ventanas del canal de los intervalos RR libres de artefacto de los distintos estados, de aproximadamente 300 segundos, para disponer de 750 intervalos RR; estas fueron analizadas mediante el *Software Kubios Heart Rate Variability 2.1*. Se calculó el SDNN, el rMSSD, la potencia y la frecuencia del “pico” o punto máximo de las bandas LF y HF, la relación LF/HF y los valores de SD1 y SD2 (obtenidos mediante el análisis de Poincaré). Las bandas de LF y HF se definieron en este trabajo entre 0,04-0,15 y 0,15-0,4 Hz respectivamente. Cabe destacar que en trabajos previos se utilizó una definición diferente de banda HF (0,15-1 Hz) no encontrando diferencias significativas entre un punto de corte y otro. Los tacogramas fueron obtenidos del *Software Spike-2*, los histogramas de frecuencia fueron realizados con el *Software Kubios Heart Rate Variability 2.1* y los diagramas de Poincaré fueron obtenidos del *Software Python 3.7*.

Se obtuvieron 4 listas de intervalos por cada animal de cada estado, obteniéndose 20 listas en total por estado.

Los datos de VFC se describen como mediana y percentiles 25% y 75%. El criterio para descartar la hipótesis nula fue de  $P < 0,05$ . Los resultados de los parámetros de VFC fueron comparados mediante pruebas estadísticas no paramétricas<sup>5,24,89</sup>, no pareadas. En la Tabla 2 se

describen los *test* estadísticos y el diseño estadístico para comparar entre grupos predeterminados. Se comparó las distintas variables de la VFC entre estados dentro de los siguientes grupos. En el “grupo basal”, se comparó entre W, sueño NREM y sueño REM. En el “grupo vigilia”, se comparó la VFC entre la W basal Vs. la W durante la PT (W-PT). En el “grupo NREM”, se comparó la VFC entre el NREM basal, el sueño NREM durante el rebote post PT (NREM post-PT) y el sueño NREM durante el procedimiento de privación selectiva del sueño REM (NREM-PRIV REM), donde el registro presenta abundante sueño NREM con presión para desencadenar sueño REM. Por último, en el “grupo REM” comparamos la VFC durante el sueño REM basal Vs. el sueño REM luego de la privación selectiva de este estado (REM post-PRIV REM).

<b><i>Test de Mann Whitney</i></b>	<b><i>Test de Kruskal Wallis (Dunn's Post hoc)</i></b>
<b><i>Grupo Vigilia: W, W-PT</i></b>	<b><i>Grupo Basal: W, NREM, REM</i></b>
<b><i>Grupo REM: REM, REM post-PRIV REM</i></b>	<b><i>Grupo NREM: NREM, NREM post-PT, NREM-PRIV REM</i></b>

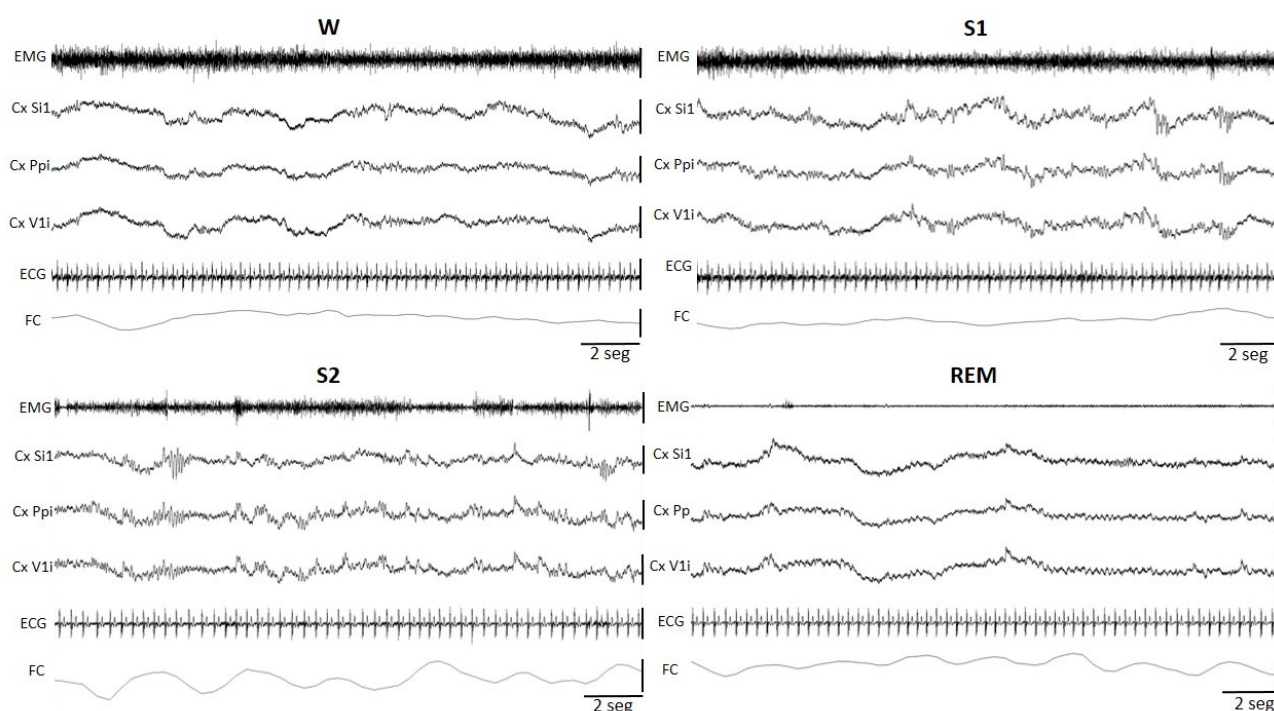
**Tabla 2.** Grupos de comparación estadística predeterminados. W, vigilia; W-PT, W durante PT; NREM, sueño NREM; NREM post-PT, sueño NREM en período post-PT; NREM-PRIV REM, sueño NREM durante PRIV REM; REM, sueño REM; REM post-PRIV REM, sueño REM en el período post-PRIV REM.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Sueño y vigilia

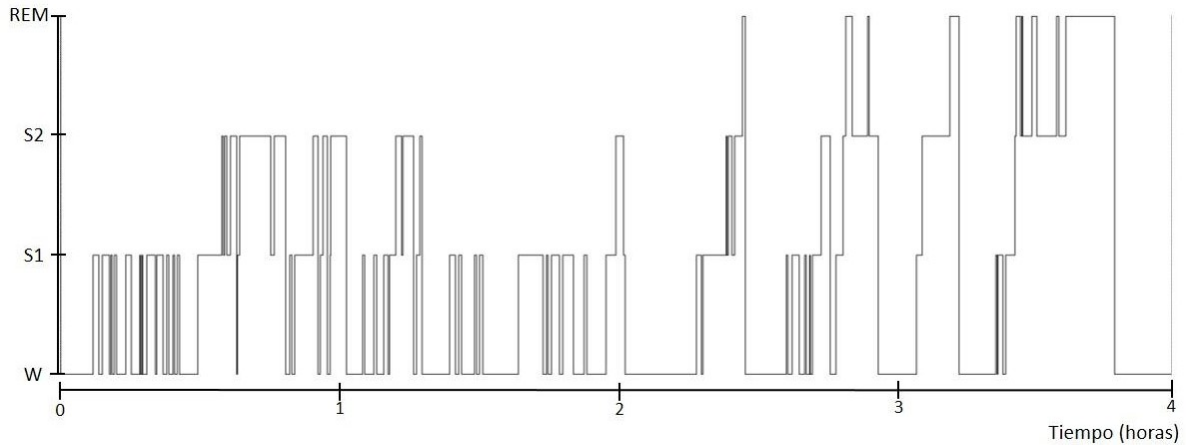
#### 4.1.1 Registros de sueño y vigilia en condiciones basales

En la Figura 4 se muestran ejemplos de registros polisomnográficos en los distintos estados. La W presenta una elevada frecuencia y baja amplitud en el EEG, mientras que en S1 y S2 es posible observar ondas lentas y husos de sueño. Durante el sueño REM se exhibe un ritmo cortical de alta frecuencia y baja amplitud y atonía en el EMG. A nivel del tacograma se observa que respecto a W, durante S2 se observan oscilaciones periódicas de la FC, mientras que durante el sueño REM estas oscilaciones tienden a ser más variables.



**Figura 4.** Registros polisomnográficos basales. W, vigilia; S1 y S2, etapas del sueño NREM; REM, sueño REM. EMG, electromiograma; Cx Si1, corteza somatosensitiva primaria; Cx Ppi, corteza parietal posterior izquierda; Cx V1i, corteza visual primaria izquierda; ECG, electrocardiograma; FC, frecuencia cardíaca. Barras de Calibración: EMG 0,1 mV; Cx 0,5 mV; ECG: 0,5 mV; FC: 140-180 latidos por minuto.

En la Figura 5, se muestra el ejemplo de un hipnograma de un animal obtenido en condiciones basales. En el mismo, se puede apreciar que en la primera y segunda hora hay un predominio de W y S1, con algunas épocas de S2. En la 3ra y 4ta hora, se observa un aumento de S2 y se registran episodios de REM, siendo éste predominante en la cuarta hora de registro.



**Figura 5.** Hipnograma obtenido a partir de registro polisomnográfico basal. Ejemplo de un animal. W, vigilia; S1 y S2, etapas del sueño NREM; REM, sueño REM.

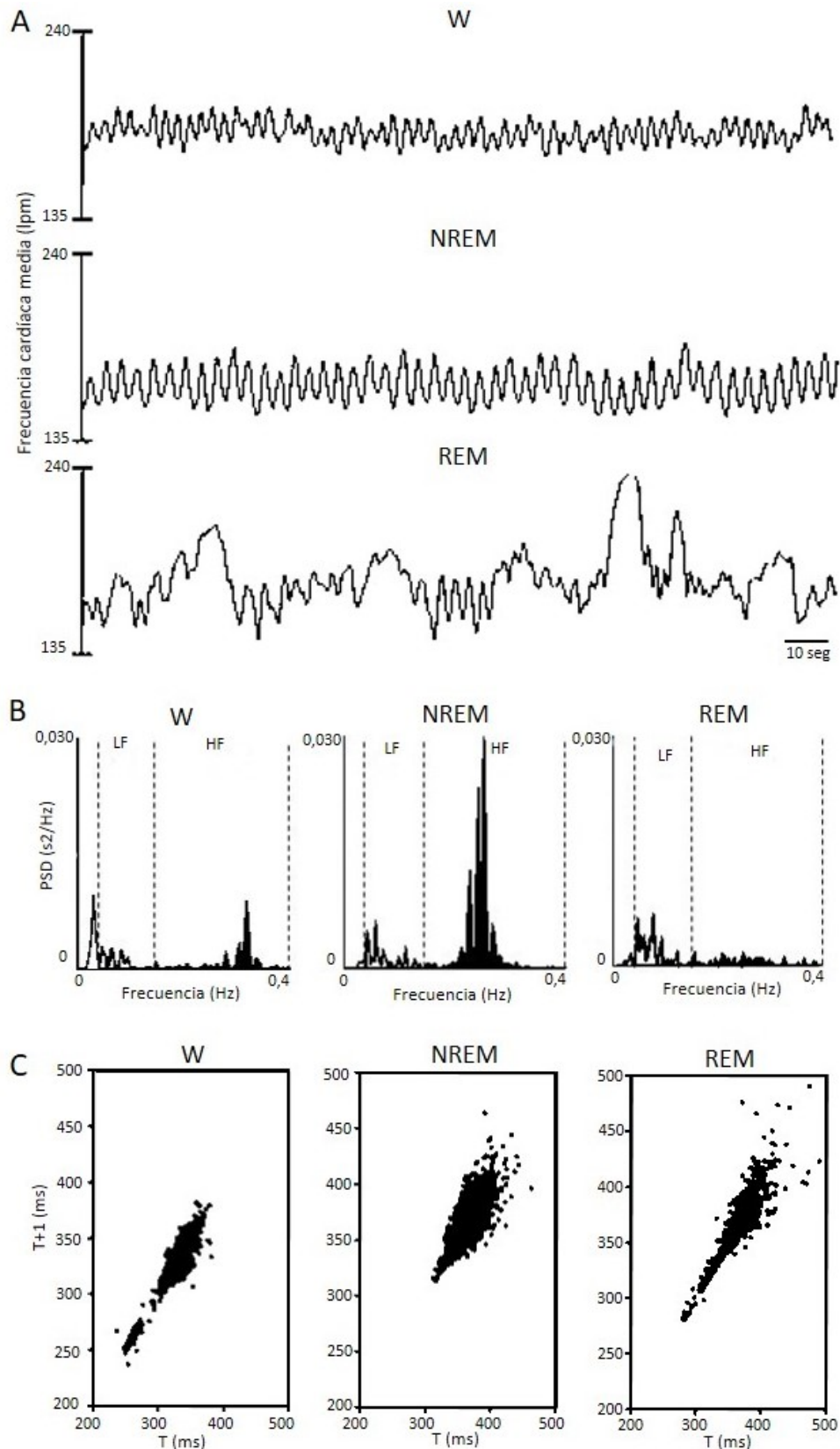
El análisis de los tiempos (porcentaje) de vigilia y sueño para todos los animales se muestra en la Tabla 3. No se observaron diferencias significativas entre el primer y segundo bloque de 2 hs.

BASAL	1ra y 2da hora						3ra y 4ta hora					
	G1	G2	G3	G4	G5	Media	G1	G2	G3	G4	G5	Media
W (%)	44	47	23	72	44	<b>46</b>	50	49	43	86	26	<b>51</b>
NREM (%)	49	53	67	23	48	<b>48</b>	38	37	49	10	66	<b>40</b>
REM (%)	7	0	10	5	8	<b>6</b>	12	14	8	4	8	<b>9</b>

**Tabla 3.** Tiempos en cada estado de sueño (NREM y REM) y vigilia de los 5 animales durante los registros basales expresados como porcentaje del total de cada período de 2 horas de registro. W, vigilia; NREM, fases S1 y S2 del NREM; REM, sueño REM.

#### 4.1.2 VFC en condiciones basales

En la Figura 6A se observan tacogramas representativos de la vigilia y el sueño de un animal. Se destaca la marcada ritmicidad en sueño NREM que se asocia con la respiración (arritmia respiratoria)<sup>5</sup>. La Figura 6B muestra histogramas de frecuencias representativos. Se observa claramente el aumento de potencia HF durante el sueño NREM y de LF en sueño REM. La Figura 6C ilustra un ejemplo del análisis de Poincaré durante la W y el sueño. Las diferencias entre estados son difíciles de apreciar por la observación directa de los diagramas.



**Figura 6.** Tacogramas (frecuencia cardíaca media) (A), histogramas de espectro de potencias (B) y diagramas de Poincaré (C), de un animal durante los registros basales de vigilia (W); sueño NREM y REM. LF, “low frequency”; HF, “high frequency”; PSD, “power spectral density”. Los valores de los índices de VFC de los ejemplos utilizados fueron los siguientes: Para W, FC media 176 lpm, SDNN 18,5 ms, rMSSD 12,4 ms, potencia LF 94 ms<sup>2</sup>, potencia HF 174 ms<sup>2</sup>, SD1 8,8 ms, SD2 24,6 ms. Para NREM, FC media 160 lpm, SDNN 27,6 ms, rMSSD 17,1 ms, potencia LF 134

ms<sup>2</sup>, potencia HF 563 ms<sup>2</sup>, SD1 12,1 ms, SD2 37,0 ms. Para REM, FC media 171 lpm, SDNN 23,3 ms, rMSSD 15,9 ms, potencia LF 187 ms<sup>2</sup>, potencia HF 131 ms<sup>2</sup>, SD1 11,3 ms, SD2 31,0 ms.

El análisis estadístico para toda la muestra de animales se exhibe en la Tabla 4. Se destaca que la mediana de intervalos R-R fue menor para la W respecto a NREM y REM, es decir que durante la W la FC es mayor que durante el sueño. A su vez, el SDNN fue mayor para el sueño REM en comparación con la W. En cuanto a la potencia, LF fue mayor para sueño REM respecto a W y NREM, mientras que HF fue mayor para NREM respecto a W; LF/HF fue menor para NREM respecto a W y REM. Por otra parte, el índice SD2 fue mayor para el sueño REM respecto a la W.

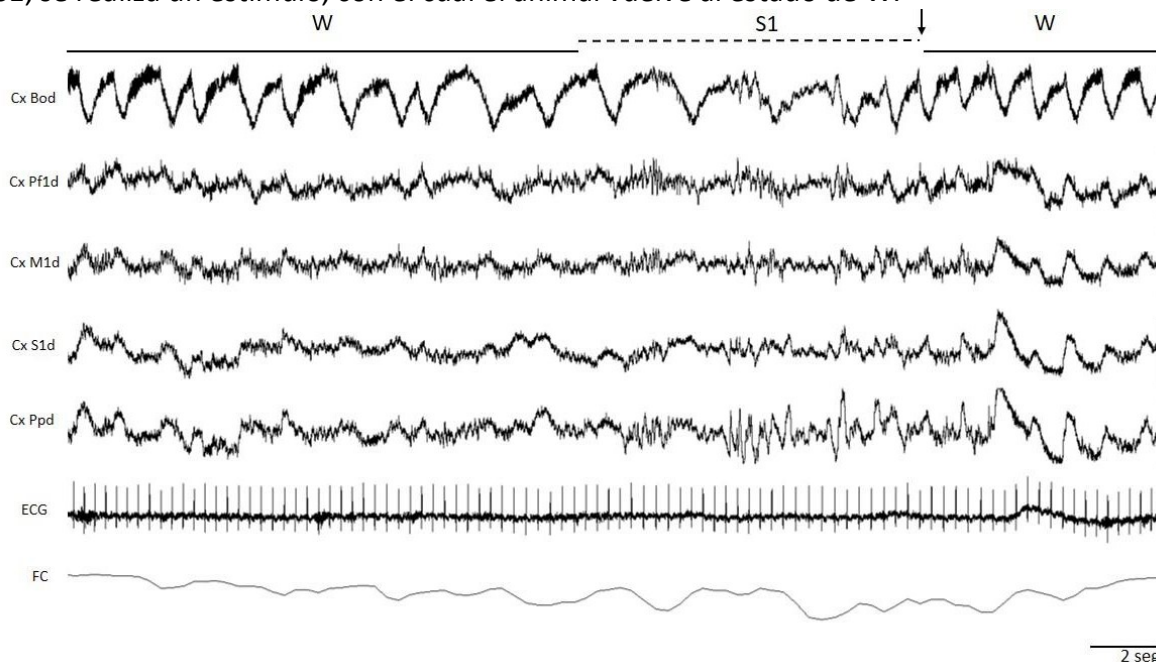
	W	NREM	REM	KW		Valor p
<b>Intervalo RR (ms)</b>	339 (326,2-352,7)	366,5 (351,8-375,1)	368,2 (350,9-378,2)	14,5	W vs. NREM	<b>0,005</b>
					W vs. REM	<b>0,001</b>
<b>SDNN (ms)</b>	17,7 (13,4-24)	23,7 (17,4-28,8)	28,7 (20,3-40)	10,4	W vs. REM	<b>0,004</b>
<b>rMSSD (ms)</b>	10,9 (9,1-13,6)	16,8 (12,1-19,2)	13,6 (9-29,1)	4,2	-	0,1
<b>Pico LF (Hz)</b>	0,04 (0,04-0,06)	0,06 (0,05-0,07)	0,05 (0,04-0,05)	5,9	-	0,05
<b>Pico HF (Hz)</b>	0,2 (0,2-0,3)	0,3 (0,2-0,3)	0,3 (0,2-0,3)	0,19	-	0,9
<b>Potencia LF (ms<sup>2</sup>)</b>	66,5 (42,5-136,8)	76,2 (50,7-114,5)	157,5 (98,2-235,8)	18,6	W vs. REM	<b>0,0006</b>
					NREM vs. REM	<b>0,0005</b>
<b>Potencia HF (ms<sup>2</sup>)</b>	71 (36,7-166)	401 (207,3-652)	173 (97,3-557,5)	16,8	W vs. NREM	<b>0,0001</b>
					W vs. REM	<b>0,03</b>
<b>Índice LF/HF</b>	0,9 (0,4-2,8)	0,2 (0,1-0,3)	0,8 (0,6-1,2)	27,4	W vs. NREM	<b>&lt;0,0001</b>
					NREM vs. REM	<b>&lt;0,0001</b>
<b>SD1 (ms)</b>	7,7 (6,4-9,6)	11,9 (8,6 - 13,6)	9,6 (6,4 - 20,5)	4,2	-	0,1
<b>SD2 (ms)</b>	23,5 (18,2-32,4)	31,3 (23,6-38,7)	38,5 (27,8-53,6)	10,7	W vs. REM	<b>0,003</b>

**Tabla 4.** Análisis de los parámetros de la VFC en condiciones basales en vigilia (W), sueño no REM (NREM) y sueño REM (REM). Los valores corresponden a la mediana y entre paréntesis el percentil 25-75 respectivamente. SDNN, desvío estándar de intervalos RR normales; rMSSD, “*root mean squared difference of successive intervals*”; LF, “*low frequency*”; HF, “*high frequency*”; KW, estadístico *Kruskal Wallis*. El análisis estadístico fue realizado con la prueba de *Kruskal Wallis (post-hoc de Dunn)*.

## 4.2 Privación total de sueño

### 4.2.1: Privación total de sueño

En la Figura 7 se muestra un registro representativo durante la PT. Cuando el animal pasa de W a S1, se realiza un estímulo, con el cual el animal vuelve al estado de W.



**Figura 7.** Registro crudo de privación total de sueño. W, vigilia; S1, sueño NREM etapa 1; Flecha, estímulo. Cx, corteza; Bod, bulbo olfatorio derecho; Pf1d, prefrontal primaria derecha; M1d, motora primaria derecha; S1d, sensitiva primaria derecha; Ppd, parietal posterior derecha. ECG, electrocardiograma; FC, frecuencia cardíaca. Barra de calibración: Cx 0,2 mV; ECG 0,5 mV; FC 160-200 latidos por minuto.

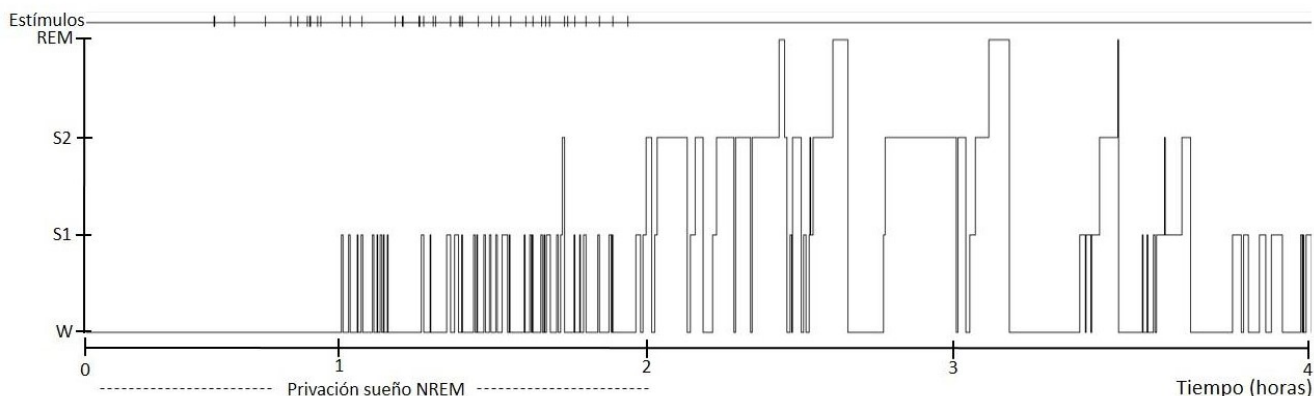
Durante la PT, la privación no llega a ser completa porque "se escapan" algunas épocas de S1 en algunos animales. La cantidad de W durante la 1ra y 2da hora de privación mostró ser significativamente mayor a la 1ra y 2da hora basal (*Test de Student* pareado a una cola,  $p=0,0028$ ).

PT	PRIVACIÓN 1ra y 2da hora PT					
	G1	G2	G3	G4	G5	Media
W (%)	78	89	88	99	96	<b>90</b>
NREM (%)	22	10	12	1	4	<b>10</b>
REM (%)	0	0	0	0	0	<b>0</b>

**Tabla 5.** Tiempos en cada estado de sueño (NREM y REM) y vigilia de los 5 animales durante los registros de la 1ra y 2da hora de privación total de sueño, expresados como porcentaje del total. PT, privación total de sueño; W, vigilia; NREM, fases S1 y S2 del NREM; REM, sueño REM.

Si bien todos los animales estaban adaptados a las condiciones de registro, algunos presentaban mayor adaptación o diferencias individuales a la privación, lo que aumentó la presión al sueño durante los experimentos. En la 1ra hora de PT, el número promedio de estímulos fue 35 y en la 2da hora fue 37, no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de estímulos entre la 1ra y 2da hora de privación (*Test de Student*  $p=0,68$ ).

En la Figura 8, se muestra un ejemplo de hipnograma obtenido a partir de un registro de PT. En la parte superior se muestra el canal de estímulos. Los mismos fueron realizados en las 1ra y 2da hora de registro, donde predomina la W y episodios de ingreso en S1, que son interrumpidos por los estímulos, retornando a la W. En la 3ra hora de registro, correspondiente al período post-privación, se observa principalmente sueño NREM, mientras en la 4ta hora también se registra sueño REM.

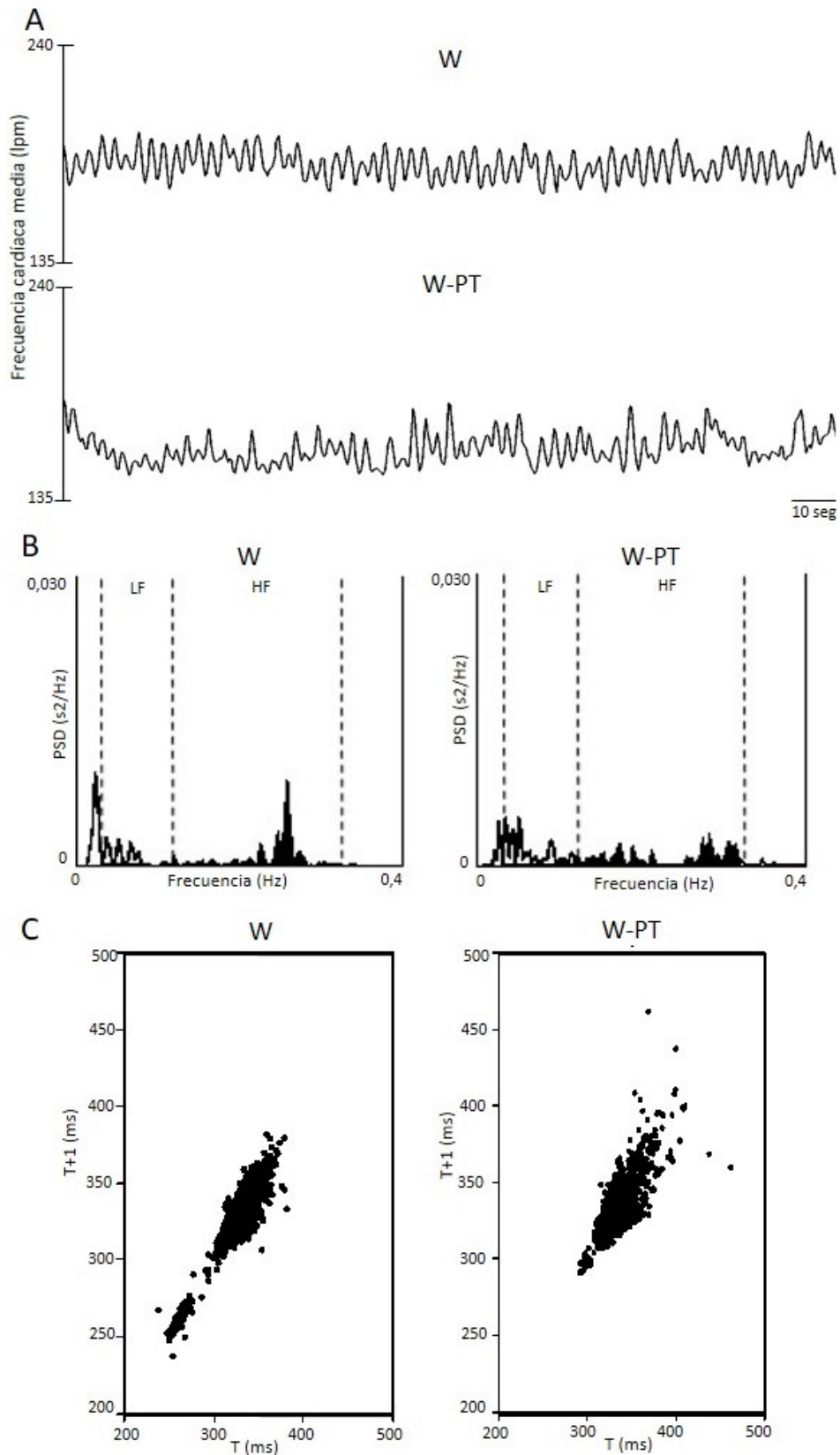


**Figura 8.** Hipnograma obtenido a partir de registro polisomnográfico durante experimento PT, ejemplo de un animal. W, vigilia; S1 y S2, etapas del sueño NREM; REM, sueño REM. Arriba se muestra canal de estímulos.

#### 4.2.2 VFC durante la privación total de sueño

En el ejemplo de la Figura 9A se observa que con respecto a la W basal, en la W durante la PT (W-PT) el tacograma muestra una mayor irregularidad. A su vez, la W-PT presenta un discreto aumento de la potencia LF respecto a la W (Figura 9B). También se observan diferencias en el diagrama de Poincaré. En el ejemplo de la Figura 9C, se puede apreciar que la distribución de puntos aparenta ser diferente en el diagrama de W-PT respecto al de W. A su vez, los intervalos RR son más largos durante la W-PT respecto a los de W.





**Figura 9.** Tacogramas (frecuencia cardíaca media) (A), histogramas de espectro de potencias (B) y diagramas de Poincaré (C) de un animal durante los registros de vigilia (W) y vigilia durante PT (W-PT). LF, “low frequency”; HF, “high frequency”; PSD, “power spectral density”. Los valores de los índices de VFC de los ejemplos utilizados fueron los siguientes: Para W, FC media 176 lpm, SDNN 18,5 ms, rMSSD 12,4 ms, potencia LF 94 ms<sup>2</sup>, potencia

HF 174 ms<sup>2</sup>, SD1 8,8 ms, SD2 24,6 ms. Para W-PT, FC media 161 lpm, SDNN 22,8 ms, rMSSD 14,3 ms, potencia LF 166 ms<sup>2</sup>, potencia HF 190 ms<sup>2</sup>, SD1 10,1 ms, SD2 30,6 ms.

Al analizar la población de animales, en comparación con la W se observa que la W-PT aumentó los siguientes índices: SDNN, potencia LF y SD2. (Tabla 6, Figuras 9B y 9C). Los demás parámetros no mostraron diferencias significativas.

	<b>W</b>	<b>W-PT</b>	<b>Valor p</b>
<b>Intervalo R-R (ms)</b>	339 (326,2-352,7)	344,2 (336,1-356,3)	0,4
<b>SDNN (ms)</b>	17,7 (13,5-24,0)	25,8 (17,3-29,9)	<b>0,03</b>
<b>rMSSD (ms)</b>	10,9 (9,07-13,6)	13,0 (9,9-13,5)	0,31
<b>Pico LF (Hz)</b>	0,05 (0,04-0,06)	0,04 (0,04-0,05)	0,1
<b>Pico HF (Hz)</b>	0,2 (0,2-0,3)	0,3 (0,2-0,4)	0,4
<b>Potencia LF (ms<sup>2</sup>)</b>	66,5 (42,5-136,8)	156,5 (110,3-238)	<b>0,005</b>
<b>Potencia HF (ms<sup>2</sup>)</b>	71 (36,7-166)	135,5 (62,2-206)	0,2
<b>Índice LF/HF</b>	0,9 (0,4-2,8)	1,2 (0,8-2,7)	0,3
<b>SD 1 (ms)</b>	7,7 (6,4-9,6)	9,2 (7-11,6)	0,3
<b>SD 2 (ms)</b>	23,5 (18,2-32,4)	34,2 (23,4-40,3)	<b>0,03</b>

**Tabla 6.** Análisis de los parámetros de la VFC en las condiciones de vigilia basal (W) y vigilia durante privación total de sueño (W-PT). Los valores corresponden a la mediana y entre paréntesis el percentil 25-75 respectivamente. SDNN, desvío estándar de los intervalos RR normales; rMSSD, “*root mean squared difference of successive intervals*”; LF, “*low frequency*”; HF, “*high frequency*”. El análisis estadístico fue realizado con el *Test de Mann Whitney*.

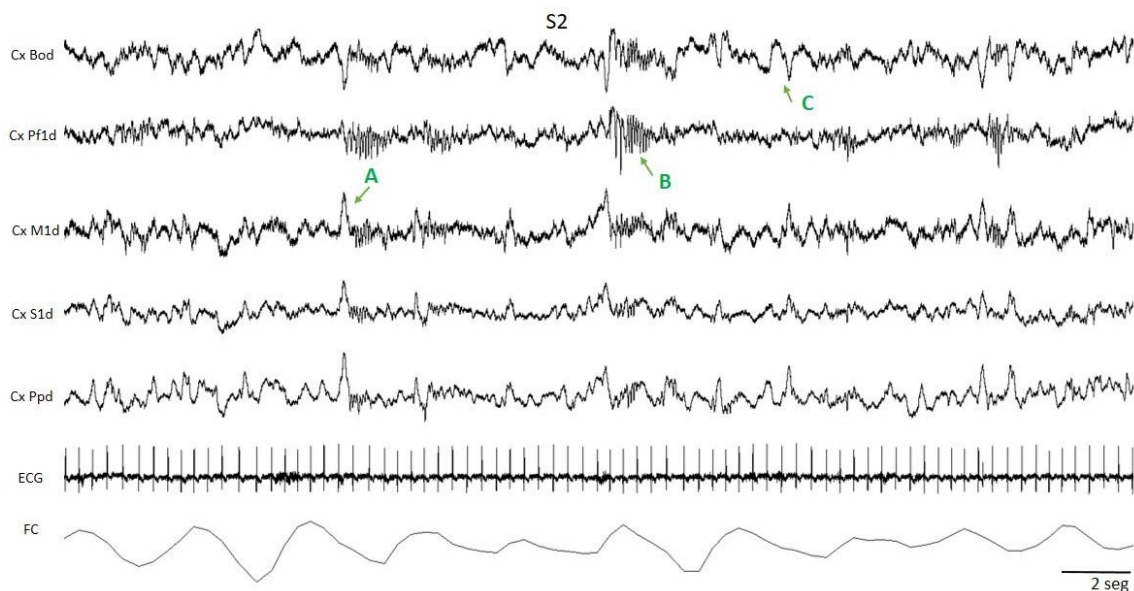
### 4.2.3: Período post-privación total de sueño

Como se exhibe en la Tabla 7, durante el período post-PT, aunque hay un aumento del tiempo en sueño NREM con respecto a las condiciones basales esta diferencia no es significativa (*Test de Student* a una cola,  $p=0,3$ ).

PT	3er y 4ta hora post-PT					
	G1	G2	G3	G4	G5	Media
W (%)	24	38	68	49	73	<b>50</b>
NREM (%)	76	55	32	51	27	<b>48</b>
REM (%)	0	7	0	0	0	<b>1</b>

**Tabla 7.** Tiempos en cada estado de sueño (NREM y REM) y vigilia de los 5 animales durante los registros de la 3er y 4ta hora post-privación total de sueño, expresados como porcentaje del total. PT, privación total de sueño; W, vigilia; NREM, fases S1 y S2 del NREM; REM, sueño REM.

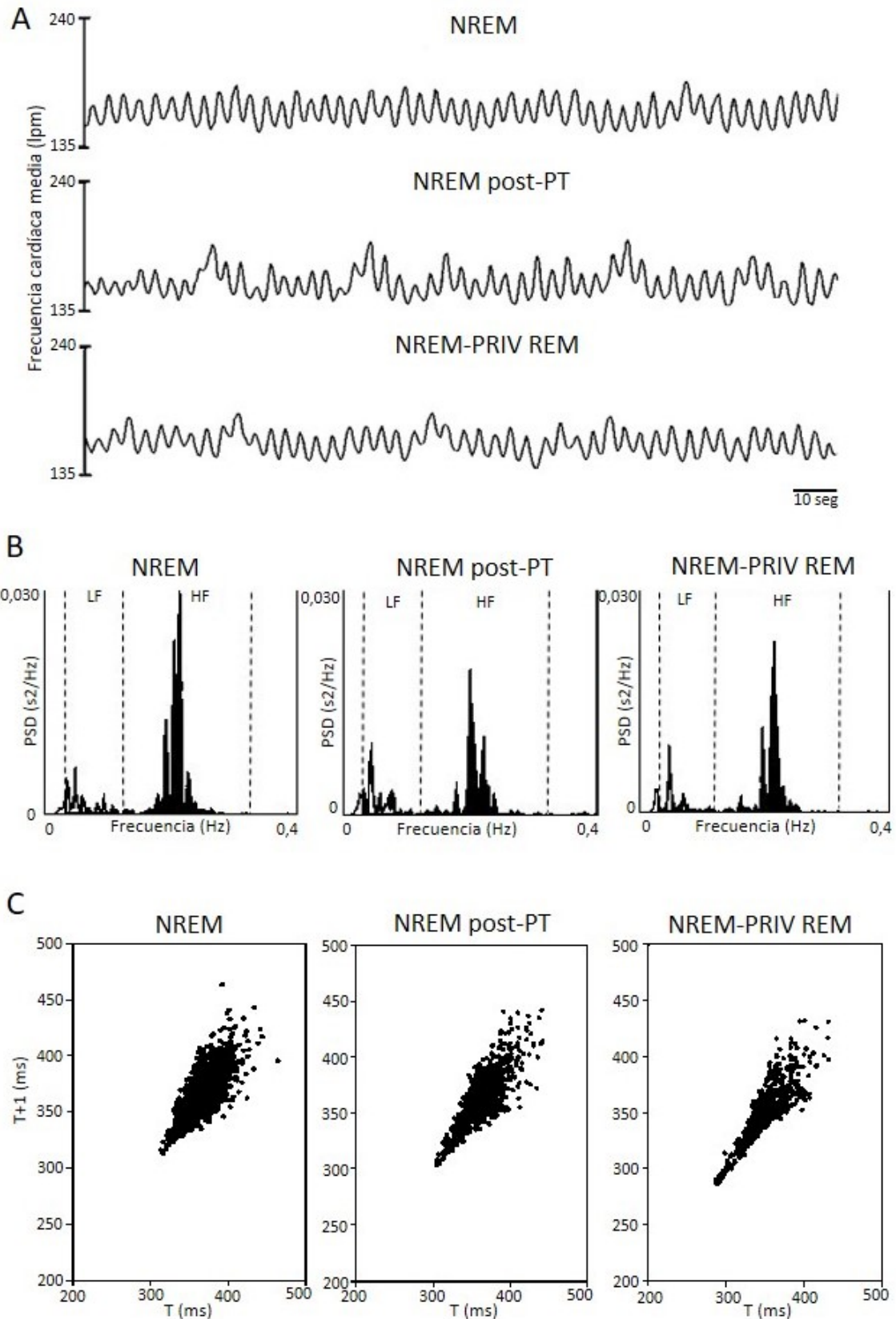
En la Figura 10 se muestra un registro representativo durante el sueño NREM durante el período post-PT (NREM post-PT).



**Figura 10.** Registro de período post-privación total de sueño, durante la fase S2 del NREM. Cx, corteza; Bod, bulbo olfatorio derecho; Pf1d, prefrontal primaria derecha; M1d, motora primaria derecha; S1d, sensitiva primaria derecha; Ppd, parietal posterior derecha. ECG, electrocardiograma; FC, frecuencia cardíaca. Barras de calibración: Cx 0,2 mV; ECG 0,5 mV; FC 120-160 latidos por minuto. A, complejos-K; B, husos de sueño; C, ondas lentas.

### 4.2.4: VFC durante el período post-privación total de sueño

Visualmente el tacograma durante el NREM post-PT no se diferencia claramente del NREM en las otras condiciones (Figura 11A). Por otra parte, el histograma de frecuencia sugiere que el componente LF es mayor durante el NREM post-PT con respecto al NREM basal (Figura 11B). Los diagramas de Poincaré son similares en las distintas condiciones de sueño NREM (Figura 11C).



**Figura 11.** Tacogramas (frecuencia cardíaca media) (A), histogramas de espectro de potencias (B) y diagramas de Poincaré (C) de un animal durante los registros de sueño NREM (NREM), NREM luego de PT (NREM post-PT) y NREM durante PRIV REM (NREM-PRIV REM), obtenidos a partir del electrocardiograma. LF, “low frequency”; HF, “high frequency”; PSD, “power spectral density”. Los valores de los índices de VFC de los ejemplos utilizados fueron los siguientes: Para NREM, FC media 160 lpm, SDNN 27,6 ms, rMSSD 17,1 ms, potencia LF

134 ms<sup>2</sup>, potencia HF 563 ms<sup>2</sup>, SD1 12,1 ms, SD2 37,0 ms. Para NREM post-PT, FC media 147 lpm, SDNN 25,7 ms, rMSSD 16,2 ms, potencia LF 163 ms<sup>2</sup>, potencia HF 411 ms<sup>2</sup>, SD1 11,5 ms, SD2 34,5 ms. Para NREM-PRIV REM, FC media 153 lpm, SDNN 26,4 ms, rMSSD 17,0 ms, potencia LF 106 ms<sup>2</sup>, potencia HF 448 ms<sup>2</sup>, SD1 12,0 ms, SD2 35,3 ms.

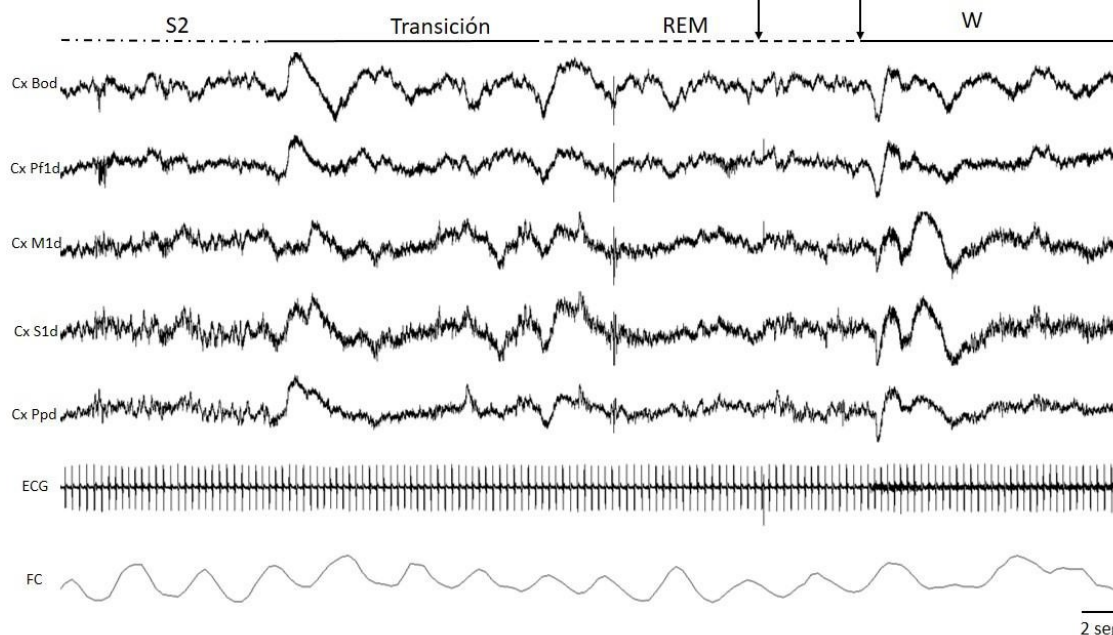
Del análisis estadístico (Tabla 8) se destaca que la potencia LF fue mayor durante NREM post-PT respecto al NREM basal. Los demás parámetros no mostraron diferencias significativas.

	NREM	NREM post-PT	NREM-PRIV REM	KW		P
<b>Intervalo R-R (ms)</b>	366,5 (351,8-375,1)	380 (358,5-402,1)	349,3 (322,4-389,7)	4,3	-	0,1
<b>SDNN (ms)</b>	23,7 (17,4-28,8)	27,4 (20,9-33,4)	23 (18,6-29,7)	2,3	-	0,3
<b>rMSSD (ms)</b>	16,8 (12,2-19,2)	16,9 (13,1-21,3)	11,9 (8,07-16,9)	2,9	-	0,2
<b>Pico LF (Hz)</b>	0,06 (0,05-0,07)	0,05 (0,05-0,06)	0,05 (0,04-0,06)	3,0	-	0,2
<b>Pico HF (Hz)</b>	0,3 (0,2-0,3)	0,3 (0,2-0,3)	0,3 (0,2-0,3)	1,0	-	0,6
<b>Potencia LF (ms<sup>2</sup>)</b>	76,2 (50,7-114,5)	136,5 (104,5-188,3)	101,5 (77,5-135)	15,5	NREM vs. NREM post-PT	<b>0,0002</b>
<b>Potencia HF (ms<sup>2</sup>)</b>	401 (207,3-652)	446 (133,5-678)	165 (50-479)	3,0	-	0,2
<b>Índice LF/HF</b>	0,2 (0,1-0,3)	0,3 (0,2-0,9)	1,1 (0,2-2,1)	6,4	NREM vs. NREM-PRIV-REM	<b>0,04</b>
<b>SD 1 (ms)</b>	11,9 (8,6-13,6)	11,9 (9,3-15,05)	8,4 (5,7-12)	2,8	-	0,2
<b>SD 2 (ms)</b>	31,3 (23,6-38,7)	35,9 (28,3-44,2)	31,4 (25,6-40,7)	2,3	--	0,3

**Tabla 8.** Análisis de los parámetros de la VFC en las condiciones de NREM basal (NREM), NREM de período post-privación total de sueño (NREM post-PT) y NREM durante privación de REM (NREM-PRIV REM). Los valores corresponden a la mediana y entre paréntesis el percentil 25-75 respectivamente. SDNN, desvío estándar de intervalos RR normales; rMSSD, “*root mean squared difference of successive intervals*”; LF, “*low frequency*”; HF, “*high frequency*”; KW, estadístico *Kruskal Wallis*. El análisis estadístico fue realizado con la prueba de *Kruskal Wallis, post hoc de Dunn*.

### 4.3: Privación selectiva de sueño REM

En la Figura 12 se muestra un registro representativo durante PRIV REM. Cuando el animal pasa de S2 a REM, se realiza un estímulo, con el cual el animal presenta un breve despertar.



**Figura 12.** Registro durante privación selectiva de sueño REM. S2, fase 2 del sueño NREM; REM, sueño REM; W, vigilia; Flecha, estímulos. Cx, corteza; Bod, bulbo olfatorio derecho; Pf1d, prefrontal primaria derecha; M1d, motora primaria derecha; S1d, sensitiva primaria derecha; Ppd, parietal posterior derecha; ECG, electrocardiograma; FC, frecuencia cardíaca. Barras de calibración: Cx 0,2 mV; ECG, 0,5 mV; FC, 160-200 latidos por minuto.

El porcentaje de tiempo en vigilia y sueño durante la PRIV REM se ilustra en la Tabla 9. La cantidad de REM durante la 1ra y 2da hora de registro de PRIV REM mostró ser significativamente menor a la que ocurre durante 1ra y 2da hora basal (*Test de Student* a una cola;  $p=0,021$ ).

PRIV REM	1ra y 2da hora PRIV REM					
	G1	G2	G3	G4	G5	Media
W (%)	19	54	22	78	42	<b>43</b>
NREM (%)	80	44	76	22	58	<b>56</b>
REM (%)	1	2	2	0	0	<b>1</b>

**Tabla 9.** Tiempos en cada estado de sueño (NREM y REM) y vigilia de los 5 animales durante los registros de la 1ra y 2da hora de privación de REM, expresados como porcentaje del total. PRIV REM, privación selectiva de sueño REM; W, vigilia; NREM, fases S1 y S2 del NREM; REM, sueño REM.

En la 1ra y 2da hora de PRIV REM se realizó un promedio de 5 y 12 estímulos respectivamente. Si bien el promedio de estímulos fue mayor en la 2da hora respecto a la 1ra, esta diferencia no mostró ser significativa.

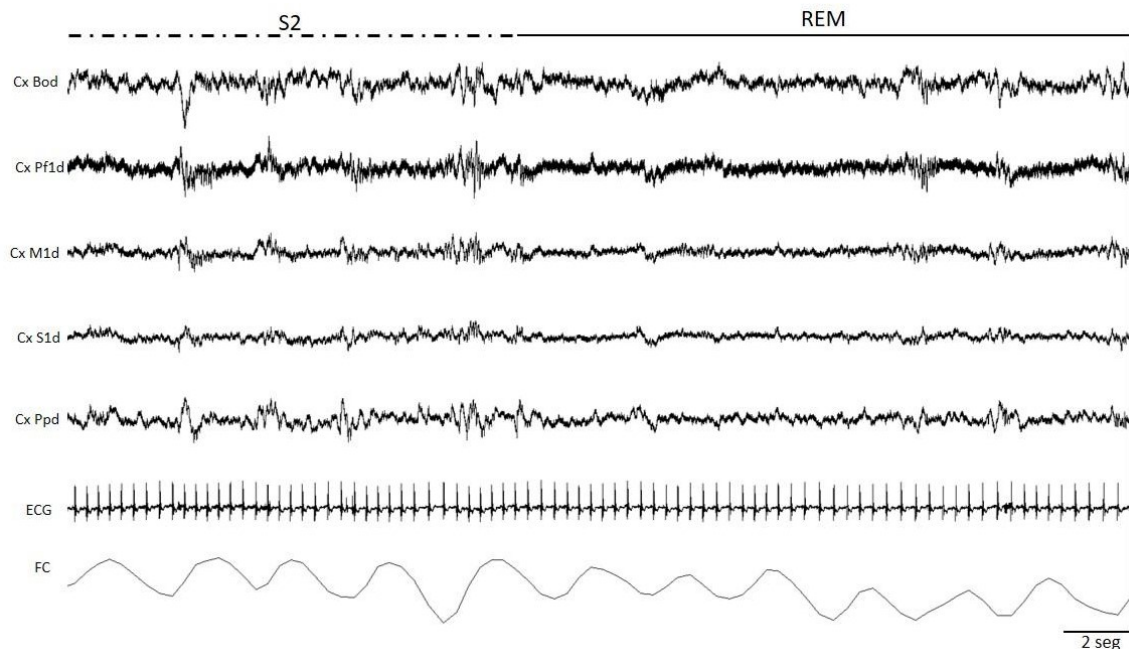
#### 4.3.1: VFC durante la privación selectiva de sueño REM

Un tacograma, un histograma de frecuencia y un histograma de Poincaré representativos del NREM durante la PRIV REM (NREM-PRIV REM) se ilustran en la Figura 11. Este estado mostró

un mayor valor de índice LF/HF respecto a NREM basal (Tabla 8). Los demás parámetros no mostraron diferencias significativas en esta etapa.

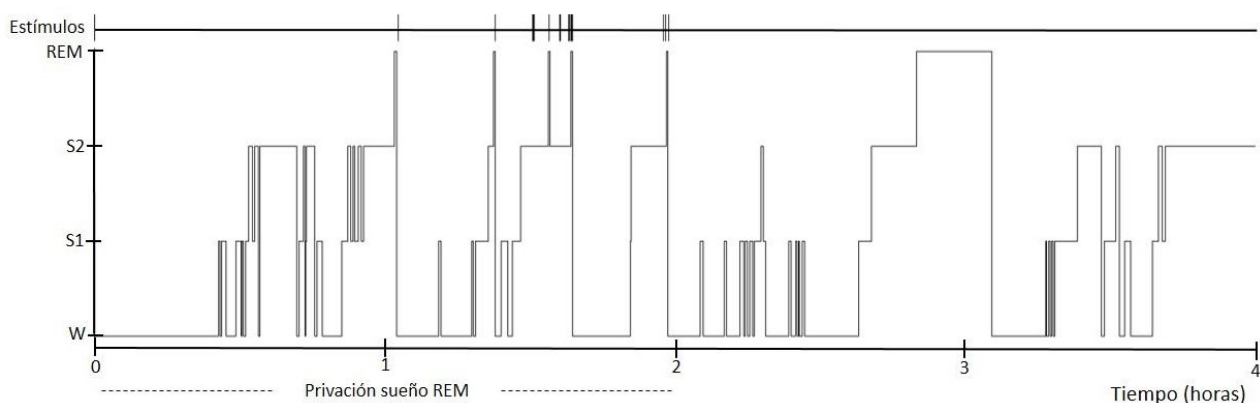
### 4.3.2: Período post-privación selectiva de sueño REM

En la Figura 13, se muestra el registro durante el período post-privación en que el animal transita de sueño NREM al sueño REM.



**Figura 13.** Registro crudo del período post-privación, luego de privación selectiva de sueño REM. S2, etapa 2 de NREM; REM, sueño REM. Cx, corteza; Bod, bulbo olfatorio derecho; Pf1d, prefrontal primaria derecha; M1d, motora primaria derecha; S1d, sensitiva primaria derecha; Ppd, parietal posterior derecha; ECG, electrocardiograma; FC, frecuencia cardíaca. Barra de calibración: cortezas 0,1 mV; ECG 0,4 mV; FC 140-180 latidos por minuto.

En la Figura 14, se muestra el hipnograma obtenido a partir de un registro de privación de sueño REM y su rebote post-privación. En la parte superior se muestra el canal de estímulos; los mismos fueron realizados en las primeras 2 hs de registro.



**Figura 14.** Registro de experimento de privación selectiva de sueño REM. W, vigilia; S1, etapa S1 de NREM; S2, etapa S2 de NREM; REM, sueño REM.

El porcentaje de sueño y vigilia en el período post-PRIV REM se enseña en la Tabla 10. La comparación por *test* pareado de la cantidad de REM durante el período post-PRIV REM no muestra diferencias significativas respecto a la cantidad de REM en la 3er y 4ta hora basal ( $p=0,38$ ).

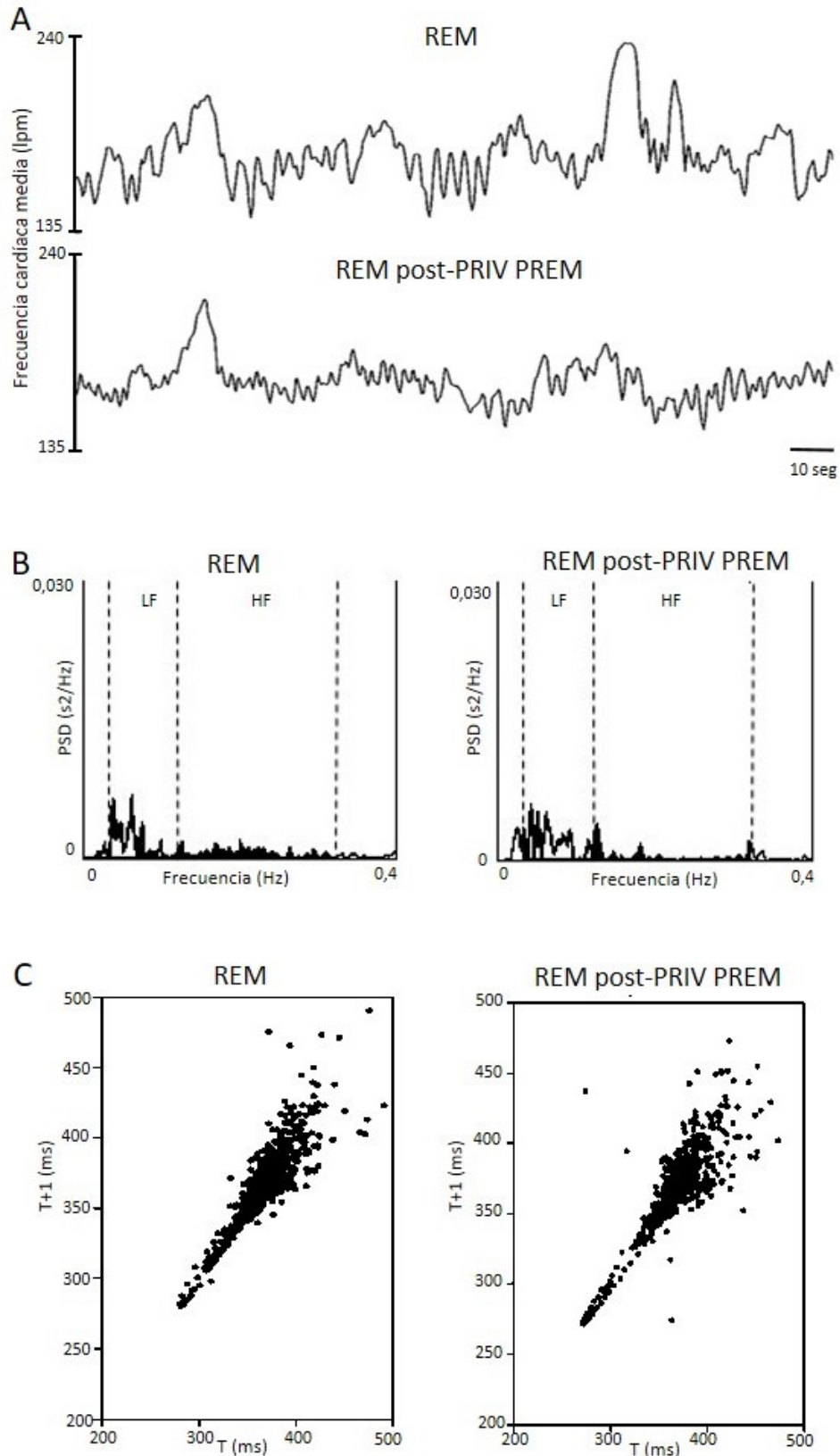
PRIV REM	3er y 4ta hora post-PRIV REM					
	G1	G2	G3	G4	G5	Media
W (%)	5	52	39	42	20	<b>32</b>
NREM (%)	81	35	46	51	70	<b>57</b>
REM (%)	14	13	15	7	10	<b>12</b>

**Tabla 10.** Tiempos en cada estado de sueño (NREM y REM) y vigilia de los 5 animales durante los registros de la 3er y 4ta hora post-privación de REM, expresados como porcentaje del total. PRIV REM, privación selectiva de REM; W, vigilia; NREM, etapa S1 y S2 del NREM; REM, sueño REM.

#### 4.3.3: VFC durante el período post-privación selectiva de sueño REM

En la Figura 15.A se muestra el tacograma durante el sueño REM basal y REM post-PRIV REM, donde no se observan claras diferencias cualitativas. Tampoco se observan en el histograma de frecuencias (Figura 15.B), ni en el diagrama de Poincaré (Figura 15.C).





**Figura 15.** Tacogramas (frecuencia cardíaca media) (A), histogramas de espectro de potencias (B) y diagramas de Poincaré (C) de un animal durante los registros de sueño REM (REM) y sueño REM luego de la PRIV REM (REM post-PRIV REM) obtenidos a partir del electrocardiograma. LF, “low frequency”; HF, “high frequency”; PSD, “power spectral density”. Los valores de los índices de VFC de los ejemplos utilizados fueron los siguientes: Para REM, FC media 171 lpm, SDNN 23,3 ms, rMSSD 15,9 ms, potencia LF 187 ms<sup>2</sup>, potencia HF 131 ms<sup>2</sup>, SD1

11,3 ms, SD2 31,0 ms. Para REM post-PRIV REM, FC media 166 lpm, SDNN 18,5 ms, rMSSD 12,5 ms, potencia LF 235 ms<sup>2</sup>, potencia HF 106 ms<sup>2</sup>, SD1 8,9 ms, SD2 24,6 ms.

El análisis estadístico (Tabla 11) entre sueño REM y REM post-PRIV REM no mostró diferencias significativas para ningún parámetro estudiado.

	REM	REM post-PRIV REM	Valor p
<b>Intervalo R-R (ms)</b>	368,2 (350,9-378,2)	371,9 (358,2-389,4)	0,4
<b>SDNN (ms)</b>	28,7 (20,3-40,03)	28,8 (24,7-36,3)	0,7
<b>rMSSD (ms)</b>	13,6 (9-29,05)	14,6 (12,9-20,6)	0,5
<b>Pico LF (Hz)</b>	0,05 (0,04-0,05)	0,05 (0,04-0,07)	0,1
<b>Pico HF (Hz)</b>	0,3 (0,2-0,3)	0,3 (0,2-0,4)	0,4
<b>Potencia LF (ms<sup>2</sup>)</b>	157,5 (98,2-235,8)	197,5 (118,8-268,5)	0,5
<b>Potencia HF (ms<sup>2</sup>)</b>	173 (97,2-557,5)	163,5 (128,3-325,5)	0,7
<b>Índice LF/HF</b>	0,8 (0,6-1,2)	1,1 (0,7-1,5)	0,5
<b>SD 1 (ms)</b>	9,6 (6,4-20,6)	10,4 (9,1-14,5)	0,5
<b>SD 2 (ms)</b>	38,5 (27,8-53,6)	38,7 (33,6-49,8)	0,7

**Tabla 11.** Análisis de los parámetros de la VFC en las condiciones de REM (REM) y REM luego de la PRIV REM (REM post-PRIV REM). Los valores corresponden a la mediana y entre paréntesis los valores correspondientes al percentil 25-75; SDNN, desvío estándar de intervalos RR normales; rMSSD, *root mean squared difference of successive intervals*; LF, “*low frequency*”; HF, “*high frequency*”. El análisis estadístico fue realizado con el *Test de Mann Whitney*.

## 5. DISCUSIÓN

En el presente trabajo observamos que la VFC sufre profundos cambios al pasar de la vigilia al NREM, y de este al REM. A su vez, demostramos que la PT no solo afecta profundamente la VFC, sino que esta se mantiene alterada durante el sueño posterior. Por último, observamos que la PRIV REM también modifica la VFC, aunque en forma más sutil. Sin embargo, estas modificaciones no se mantienen durante el sueño REM del período post-privación.

### 5.1 Consideraciones técnicas

Se trabajó en animales muy adaptados a las condiciones de registro. La privación de sueño fue de corta duración, y se realizó con mínimas intervenciones que no causaron dolor. A su vez, la privación no generó comportamientos (movimientos, maullidos, etc.) que desde el punto de vista comportamental sugieran un estado de alerta o estrés; si este estuvo presente fue de leve entidad. Es más, durante el proceso de privación los animales mostraban una vigilia tranquila. Por otra parte, se destaca que las condiciones semi-restringidas del registro determinan que no ocurran cambios en la posición corporal o movimientos que puedan alterar los procesos cardiovasculares.

### 5.2 VFC durante la vigilia y el sueño

En condiciones basales la W presentó una FC mayor (menor duración de los intervalos) que el NREM y REM. Esta disminución de la FC durante el sueño fue previamente observada en gatos<sup>99</sup>, ratas<sup>100,101</sup> y humanos<sup>31</sup>. Sin embargo, en humanos, la tendencia común en la literatura es que durante el REM la FC es más alta que en el NREM. Los períodos fásicos del REM que se caracterizan por una alta frecuencia de movimientos oculares, sacudidas musculares y salvas de ondas PGO, se acompañan de aumentos repentinos de la FC (así como de la presión arterial) en varias especies<sup>102</sup>. Un predominio del número y/o la intensidad de los períodos fásicos podrían explicar la aceleración de la FC en seres humanos durante este estado comportamental.

El SDNN aumentó durante el REM con respecto a la W. En el trabajo de Brando et al.<sup>5</sup> en felinos, en comparación con la W, el SDNN y rMSSD aumentaron durante el NREM y REM, sugiriendo que la variabilidad tanto a corto como a largo plazo aumenta durante el sueño. En el presente trabajo, la tendencia fue similar. Sin embargo, solamente observamos cambios estadísticamente significativos al comparar la SDNN durante la W vs. el REM.

El análisis del dominio de la frecuencia es especialmente importante porque se usa ampliamente, no solo en estudios preclínicos, sino también en estudios clínicos. La HF, fue mayor para el NREM y REM respecto a la W, sin variaciones en el pico de frecuencia. Se destaca que, aunque la diferencia no llegó a ser significativa, el valor de potencia de HF durante el NREM duplica al REM. Existe un aumento de HF durante el NREM que se asocia con la actividad respiratoria (arritmia respiratoria) y se ha descrito en gatos, ratas y humanos<sup>5,101,103</sup>. Durante el REM, la HF es más desorganizada, abarcando un mayor abanico de frecuencias, y si bien se ha descrito que la HF disminuye durante el REM en humanos<sup>103</sup>, también hay trabajos en humanos y ratas que muestran que los valores de HF no disminuyen durante el REM<sup>5,101,104</sup>.

La LF fue mayor durante REM que en vigilia, sin cambio en la frecuencia del pico. El hecho de que la potencia LF fue baja durante la W confirma que en condiciones basales los animales estaban tranquilos y relajados, ya que este índice depende profundamente del nivel de alerta<sup>104,105</sup>. Brando et al.<sup>5</sup> también mostraron mayores valores de LF durante el REM. Tanto en este como en el presente trabajo, las diferencias fueron significativas solamente en comparación con la W,

posiblemente porque se utilizó un “n” relativamente bajo. De acuerdo con nuestros resultados, valores de LF relativamente grandes también se observaron durante el REM en el hombre<sup>103,104</sup>.

El índice LF/HF, que refleja el balance autonómico simpático/parasimpático, fue significativamente menor en NREM al compararlo con la W, siendo este un hallazgo común tanto en felinos<sup>5</sup>, como en ratas o humanos<sup>101,106</sup>.

Brando et al.<sup>5</sup> describieron que tanto SD1 como SD2 fueron menor en W que en ambos estados de sueño. Nuestros resultados muestran lo mismo, pero el resultado solo llega a ser significativo para SD2 al comparar W con REM.

### 5.3 Privación total de sueño

La privación total de sueño (PT) resultó ser muy exitosa, lográndose mantener los animales prácticamente todo el tiempo en vigilia (W-PT), ocurriendo muy pocas épocas de S1.

Comparado con la W basal, aunque no hubo variaciones significativas de la FC (o duración de los intervalos), durante la W-PT aumentaron los índices SDNN, LF y SD2. Esto sugiere una mayor variabilidad global, dado un aumento del SDNN y del SD2, los cuales están altamente correlacionados en vigilia en esta especie<sup>5</sup>. Resultados similares fueron encontrados por otros investigadores en otras especies<sup>71,72,74,75</sup>.

En humanos, Zhong et al.<sup>72</sup> encontraron en sujetos sanos que a partir de las 12 hs de PT ocurre un aumento de la modulación simpática cardíaca y de la PA, disminución de la modulación parasimpática cardíaca y de la sensibilidad barorrefleja. Luego de 24 hs de PT, Chen et al.<sup>71</sup> reportan un aumento de la potencia LF, o del índice LF/HF así como una disminución de la potencia HF.

En modelos animales, Chang et al.<sup>75</sup> estudiaron ratas adultas sometidas a 5 días de PT y encontraron un aumento de los valores de FC y de la PA a partir de registros diurnos y nocturnos, respecto a los controles. Sgoifo et al.<sup>74</sup> observaron que la PT en ratas durante 48 hs genera un incremento tónico de la FC, la cual se mantuvo significativamente elevada en condiciones de reposo por dos días. Luego de la PT hubo una reducción significativa del componente vagal. A su vez, estas mostraron una ocurrencia significativamente mayor de latidos ventriculares prematuros durante la PT en comparación con las ratas control, lo que sugiere un cambio en el equilibrio autónomo caracterizado por una "protección" vagal reducida en ratas durante la PT.

En nuestro trabajo también encontramos un aumento de LF. Aunque esto es discutido<sup>14-16</sup>, podría asociarse a un aumento leve de la actividad simpática, que no se traduce con un aumento de la FC. Esto puede ocurrir sobre todo si también aumenta la modulación parasimpática, en este caso si bien el aumento de rMSSD y HF no fue significativo, hay una tendencia a su aumento en la W-PT respecto a la W basal. Esto es esperable ya que el animal se encuentra bajo una condición de presión física, en la que recibe estímulos al momento de intentar dormirse.

Es interesante destacar que se ha señalado que con 40 hs de PT ocurren fenómenos de disfunción microvascular que preceden los cambios en la PA, FC y actividad simpática<sup>70,72,107</sup>. La PT podría representar un estímulo suficiente para desencadenar la disfunción endotelial<sup>108</sup> que podría explicar la relación entre los trastornos del sueño y las ECV.

El NREM que continúa el período post-privación mostró un aumento significativo de LF en comparación con el NREM basal. Si bien se describe que el NREM tiene propiedades inhibitoras simpáticas específicas<sup>109</sup>, es posible que el aumento de la actividad simpática que ocurre en la W-PT persista durante el NREM post-PT. Es más, los cambios autonómicos durante el sueño post-PT proporcionan evidencia de la presión autónoma acumulada durante la privación de sueño. Chen et al.<sup>71</sup> observaron un aumento significativo de la LF y una disminución significativa de la HF durante el período post-PT luego de 24 hs de privación respecto al control, y Zhong et al.<sup>72</sup> encontraron resultados similares con 12 hs de privación de sueño. En cambio, otros autores encontraron un

aumento de la potencia HF durante el rebote de NREM<sup>81,110</sup>. Estas diferencias pueden deberse al momento del NREM post-PT en que se realizan las mediciones, siendo probable que las mediciones más próximas al período de privación presenten una mayor actividad simpática.

#### **5.4 Privación selectiva de sueño REM**

La privación selectiva de REM, logró suprimir prácticamente todo este estado; en este período hubo un predominio del sueño NREM. El NREM durante este período (sueño NREM-PRIV REM) mostró un mayor valor de índice LF/HF respecto a NREM basal. Consideramos que este índice aumentó a expensas de un mayor valor de potencia LF, el cual es mayor respecto al NREM, pero no en forma significativa. Esto puede deberse a que, si bien el NREM fisiológicamente tiene una predominancia de la actividad parasimpática, la privación de REM constituye un ligero estado de estrés generando un aumento de la actividad simpática, así como una presión para generar REM. Resultados similares fueron encontrados por Yang et al<sup>76</sup>, que observaron un aumento de la LF en ratas sometidas a PRIV REM durante 72 hs. También por Perry et al<sup>79</sup>, que encontraron que la actividad del nervio simpático se incrementó en los animales sometidos a PRIV REM respecto al control. Sin embargo Almeida et al<sup>78</sup> no encontraron cambios en el tono simpático durante la PRIV REM.

La cantidad de REM durante el período post-PRIV REM (REM post-PRIV REM) no mostró diferencias significativas respecto a la cantidad de REM basal. Tampoco se observaron diferencias en la duración de los intervalos, ni en los distintos parámetros de VFC analizados en comparación con el REM basal. Sin embargo, otros autores han encontrado diferencias. Yang et al. (2018)<sup>76</sup>, describieron que el rebote de REM disminuyó la VLF y aumentó la HF en comparación con control y PRIV REM, reduciendo significativamente la FC. Por otra parte, Radulovacki et al<sup>82</sup> observaron un aumento de la FC en el REM posterior a la PRIV REM respecto al REM basal. A su vez Karadzic y Dement<sup>77</sup> observaron un aumento de la FC en todos los estados en forma significativa luego de la PRIV REM, el cual también sería compatible con un estado de predominancia simpática.

Una de las posibles razones de las discrepancias de nuestros resultados con los hallazgos previos es que el tiempo de privación haya sido insuficiente para modificar estos parámetros, no generando una suficiente presión de sueño REM. Otra de las explicaciones de este resultado es que dado que el REM se caracteriza por un modo de regulación de "circuito abierto"<sup>110</sup>, que no se basa en bucles de retroalimentación homeostáticos tan estrictos como durante la W o el NREM, es posible que esto influya para que se mantengan similares patrones autonómicos pese a las interferencias externas.

#### **5.5 El sistema nervioso autónomo como determinante de la VFC durante el sueño y su privación**

Las interacciones entre el reflejo local y los mecanismos reguladores cardiovasculares centrales son complejas y muchos de los mecanismos de control implicados son intrínsecamente no lineales<sup>111</sup>. El control neural del sistema cardiovascular se logra mediante la regulación autonómica del corazón y los vasos. El flujo de salida autónomo incluye tanto la contribución periférica refleja (barorreceptores, quimiorreceptores, etc.), como los comandos centrales que cambian en función de los estados de comportamiento, emoción, ejercicio, etc. La complejidad de esta regulación dificulta evaluar el efecto del sueño sobre la VFC<sup>111</sup>.

Se ha demostrado que el patrón de actividad autonómica característica del NREM es la prevalencia funcional de influencias parasimpáticas asociadas con la reducción de la actividad simpática<sup>102</sup>. El NREM presenta una regulación a la baja de la actividad cardiovascular; sin embargo,

la magnitud de esta regulación depende de la especie. En el gato, hay una disminución de la presión arterial y la FC, mientras que el volumen sistólico no cambia<sup>102</sup>.

En el presente estudio, durante el sueño NREM observamos una disminución de la FC y una fuerte regularidad de las variaciones de los intervalos R-R. Además, en comparación con W, durante el sueño REM y NREM hubo una mayor variabilidad de los intervalos a corto y largo plazo. El tipo de VFC observado en períodos de marcada arritmia sinusal respiratoria como en el sueño NREM, se ha atribuido a influencias vagales<sup>16</sup>. En relación a este punto, el aumento de la HF durante el sueño NREM estaría relacionado con un control cardíaco barorreflejo más prominente, con menos influencia de comandos autónomos centrales<sup>112</sup>. Se ha hipotetizado que la actividad reducida de las neuronas del núcleo parabraquial pontino (PBN) durante esta etapa podría desinhibir el barorreflejo a nivel del núcleo del tracto solitario (NTS)<sup>112</sup>.

La característica autónoma básica del REM es la gran variabilidad en la actividad simpática, presentando incrementos fásicos en un fondo de una disminución tónica en el tono simpático. Esto se asocia con cambios fásicos en el tono parasimpático; la actividad parasimpática tónica es igualmente mayor que en vigilia<sup>99,102</sup>. Como mencionamos anteriormente, en contraste con la vigilia y el NREM, esta variabilidad durante el REM se atribuye a un sistema de "circuito abierto"<sup>102</sup>.

La LF fue mayor en el REM que en W y el NREM. Es probable que el aumento fásico de la actividad simpática durante el REM sea responsable del aumento de LF, como se sugirió en humanos<sup>104</sup>. De hecho, los períodos fásicos del REM, se acompañan de aumentos repentinos de la FC (así como en la presión arterial) en varias especies<sup>102</sup>. En perros, el 90% de los picos de FC se concentran durante el REM fásico<sup>113</sup>. Por tanto, los incrementos fásicos en la actividad de ambas ramas autónomas durante el REM podrían explicar la VFC a corto y largo plazo encontrada durante este estado. Las desaceleraciones van acompañadas principalmente de aceleraciones previas de la FC y aumentos de la presión arterial, e implican la activación de los barorreceptores<sup>99,114</sup>. En los perros, estas pausas transitorias de la FC están presentes durante el sueño en la transición del NREM al REM, y también durante los períodos fásicos del REM<sup>114</sup>.

Desaceleraciones mediadas por el vago pero no precedidas por aumentos de la PA o la FC (es decir, no barorreflejas), están presentes principalmente durante el REM tónico en el gato<sup>115</sup>. En humanos, Guilleminault et al.<sup>113</sup> observaron períodos de parada sinusal durante el REM en adultos jóvenes aparentemente sanos; algunos de estos individuos experimentaron períodos de asistolía de hasta 9 segundos durante el REM. Dado que la administración de antagonistas colinérgicos muscarínicos redujo la duración de la asistolía nocturna, se sugiere que la causa es un tono vagal exagerado. Por lo tanto, estos datos sugieren una fuerte activación parasimpática durante el REM, y son consistentes con nuestros resultados de mayor HF en comparación con W.

Es posible que los circuitos neuronales responsables de los cambios simpáticos se ubiquen en el tronco encefálico, dado que persisten después de la descerebración<sup>116,117</sup>. También se conoce que pueden ocurrir en ausencia de actividad barorrefleja y de reflejos provocados por atonía muscular ya que la actividad del nervio simpático esplácnico y renal disminuyen independientemente de la denervación sinoaórtica, vagotomía y parálisis muscular<sup>116</sup>. La sustancia gris periacueductal (SGPA) ventrolateral contiene neuronas simpático-inhedoras que son inhibidas durante el sueño REM<sup>86,118</sup>, mientras que otras neuronas simpático-excitadoras ubicadas en la SGPA lateral se activarían durante este estado<sup>119</sup>.

En lo que respecta a la PT y su rebote, de acuerdo a nuestros hallazgos en gatos, así como resultados en humanos<sup>72,75</sup> y en ratas<sup>74</sup>, los cambios autonómicos evidenciados en la FC y en la PA van en sentido de un aumento de la modulación simpática que se acompañan de una disminución concomitante de la modulación parasimpática. Estos cambios también se traducen en un aumento de la potencia LF y del índice LF/HF, acompañados de una disminución de la potencia HF.

En cuanto a la PRIV REM, autores han encontrado una predominancia de la actividad simpática manifestada por un aumento de la potencia LF<sup>76</sup> como por un aumento de la descarga del nervio simpático<sup>79</sup>. Es conocido que la privación *per se* es una condición de estrés que favorece esta respuesta autonómica. En lo que respecta al rebote de sueño luego de la PRIV REM hay discrepancias en los hallazgos de la literatura. Algunos autores describen un aumento de la FC luego de la PRIV REM<sup>77,82</sup>, no pudiendo confirmar si se debe a una predominancia simpática o a un retiro vagal. En cambio otros autores<sup>76</sup> encuentran un aumento de la potencia HF en el rebote.

## **6. Conclusiones**

La VFC es una herramienta importante para el estudio de la actividad del SNA, la cual presenta cambios en los distintos estados de sueño. La privación total de sueño altera el equilibrio autonómico lo que se manifiesta con cambios importantes en la VFC. Parte de estas alteraciones se mantienen en el sueño NREM posterior a la privación. Por otra parte, la privación selectiva de sueño REM genera cambios sutiles en la VFC que no se prolongan al sueño REM posterior. En suma, caracterizamos la VFC durante la vigilia y el sueño en un modelo felino, y demostramos que la privación total de sueño o selectiva de sueño REM afecta la regulación autonómica del ritmo cardíaco.

## **7. Perspectivas**

Existen evidencias experimentales tanto en humanos como en roedores que la HF, así como la LF y LF/HF, muestran una correlación positiva y negativa, respectivamente, con la banda delta del EEG<sup>106,120,121</sup>. Es nuestro interés seguir profundizando en el estudio de la relación entre la actividad del EEG y la VFC durante la vigilia, el sueño y su privación. Para ello nos proponemos analizar la potencia espectral, conectividad funcional, complejidad y direccionalidad del EEG (métodos comúnmente utilizados en nuestro laboratorio), y correlacionarla con la VFC.



## 8. Referencias Bibliográficas

1. Carskdon M. and Dement C. Normal human Sleep: an overview. In *Principles and practice of sleep medicine Vol 5*. (Ed. Dement, M. K. T. R. W.) 16–26 (Elsevier Saunders, 2011).
2. Torterolo P., Castro-Zaballa S., Cavelli M. and Gonzalez J. Chapter 1 - Arousal and normal conscious cognition. In (ed. Garcia-Rill, E. B. T.-A. in N. and P. D.) 1–24 (Academic Press, 2019).
3. Hobson J. REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 803–813 (2009).
4. Torterolo P., González J., Castro-Zaballa S. *et al.* Chapter 2 - Polysomnography in humans and animal models: basic procedures and analysis. In (ed. Murillo-Rodriguez, E. B. T.-M. A. for S. and V. R.) 17–32 (Academic Press, 2022).
5. Brando V., Castro-Zaballa S., Falconi A. *et al.* Statistical, spectral and non-linear analysis of the heart rate variability during wakefulness and sleep. *Arch. Ital. Biol.* 152, 32–46 (2014).
6. Kiviniemi A., Tulppo M., Wichterle D. Novel spectral indexes of heart rate variability as predictors of sudden and non-sudden cardiac death after an acute myocardial infarction. *Ann Med.* 39, 54–62 (2007).
7. Guidelines Heart rate variability. *European Heart Journal.* 17, 354–381 (1996).
8. Goldberger A., Rigney D., West B. Chaos and fractals in human physiology. *Sci Am* 262, 42–9 (1990).
9. Goldberger A., West B. Fractals in physiology and medicine. *Yale J Biol Med.* 60 (5), 421–35 (1987).
10. Beckers F., Verheyden B., Ramaekers D. *et al.* Effects of autonomic blockade on non-linear cardiovascular variability indices in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 33, 431–98 (2006).
11. Kaplan D., Furman M., Pincus S. *et al.* Aging and the complexity of cardiovascular dynamics. *Biophys J* 59 (4), 945–9 (1991).
12. Pincus S. Assessing serial irregularity and its implications for health. *Ann N Y Acad Sci.* 954, 245–67 (2001).
13. Varela M., Ruiz-Esteban R., Mestre de Juan M. Chaos, fractals, and our concept of disease. *Perspect Biol Med.* 53 (4), 584–95 (2010).
14. Akselrod S., Gordon D., Ubel F. *et al.* Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213, 220–222 (1981).
15. Malliani A., Lombardi F., Pagani M. Power spectrum analysis of heart rate variability: a tool to explore neural regulatory mechanisms. *Br. Hear. J.*, 71, 1–2 (1994).
16. Pomeranz B., Macaulay R., Caudill M. *et al.* Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. *Am. J. Physiol.* 248, 151–153 (1985).
17. Penttilä J., Helminen A., Jartti T. *et al.* Time domain, geometrical and frequency domain analysis of cardiac vagal outflow: effects of various respiratory patterns. *Clin. Physiol.* 21, 365–376 (2001).
18. Kamen P., Krum H., Tonkin A. Poincare plot of heart rate variability allows quantitative display of parasympathetic nervous activity in humans. *Clin Sci* 91 (2), 201–8 (1996).
19. Okamoto-Mizuno K., Tsuzuki K., Mizuno Koh *et al.* Effects of low ambient temperature on heart rate variability during sleep in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 105, 191–197 (2009).
20. Burr R. Interpretation of normalized spectral heart rate variability indices in sleep research: A critical review. *Sleep* 30, 913–919 (2007).
21. Brennan M., Palaniswami M. and Kamen P. Do existing measures of Poincaré plot geometry

- reflect nonlinear features of heart rate variability? *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 48, 1342–1347 (2001).
22. Brennan M., Palaniswami M. and Kamen P. Poincare plot interpretation using a physiological model of HRV based on a network of oscillators. *Am J Physiol Hear. Circ Physiol* 283(5), 1873–86 (2002).
  23. De Vito G., Galloway S., Nimmo M. et al. Effects of central sympathetic inhibition on heart rate variability during steady-state exercise in healthy humans. *Clin Physiol Funct Imaging* 22 (1), 32–8 (2002).
  24. Contreras, P. Estudio de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca a través del gráfico de Poincaré. Tesis de Magister en Ciencias Biológicas, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, 2005. [http://www.fisio.fmed.edu.uy/tesis%20del%20Dpto/Contreras\\_2005.pdf](http://www.fisio.fmed.edu.uy/tesis%20del%20Dpto/Contreras_2005.pdf)
  25. Tulppo M., Makikallio T., Takala T. et al. Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise. *American Physiological Society* 244–252 (1996).
  26. Méndez M., Bianchi A., Villantieri O. and Cerutti S. Time-varying analysis of the heart rate variability during REM and non REM sleep stages. *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. - Proc.* 3576–3579 (2006).
  27. Miyashita T., Ogawa K., Itoh H. et al. Spectral analyses of electroencephalography and heart rate variability during sleep in normal subjects. *Auton. Neurosci. Basic Clin.* 103, 114–120 (2003).
  28. Monti A., Medigue C., Nedelcoux H. et al. Autonomic control of the cardiovascular system during sleep in normal subjects. *Eur. J. Appl. Physiol.* 87, 174–181 (2002).
  29. Somers V., Dyken M., Mark A. et al. Sympathetic-nerve activity during sleep in normal subjects. *N. Engl. J. Med.* 328, 303–307 (1993).
  30. Vanoli E., Adamson P., Ba-Lin, Pinna G. et al. Heart rate variability during specific sleep stages. A comparison of healthy subjects with patients after myocardial infarction. *Circulation* 91, 1918–1922 (1995).
  31. Vaughn B., Quint S., Messenheimer J. et al. Heart period variability in sleep. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 94, 155–162 (1995).
  32. Pedemonte M., Rodríguez-Alvez A. and Velluti R. Electroencephalographic frequencies associated with heart changes in RR interval variability during paradoxical sleep. *Auton. Neurosci. Basic Clin.* 123, 82–86 (2005).
  33. Sei H. and Morita Y. Effect of ambient temperature on arterial pressure variability during sleep in the rat. *J. Sleep Res.* 5, 37–41 (1996).
  34. Silvani A., Bojic T., Cianci T. et al. Effects of acoustic stimulation on cardiovascular regulation during sleep. *Sleep* 26, 201–205 (2003).
  35. Spyer K. Annual review prize lecture. Central nervous mechanisms contributing to cardiovascular control. *J. Physiol.* 474, 1–19 (1994).
  36. Dicarlo S. and Bishop V. Central baroreflex resetting as a means of increasing and decreasing sympathetic outflow and arterial pressure. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 940, 324–337 (2001).
  37. Okada H., Iwase S., Mano T. et al. Changes in muscle sympathetic nerve activity during sleep in humans. *Neurology.* 41, 1961–1966 (1991).
  38. Inoue Y. and Komada Y. Sleep loss, sleep disorders and driving accidents. *Sleep and Biological Rhythms*; 12: 96–105 (2014).
  39. Banks S., Van Dongen H., Maislin G. et al. Neurobehavioral dynamics following chronic sleep restriction: dose-response effects of one night for recovery. *Sleep* 233, 1013–26 (2010).
  40. Killgore W., Kahn-Greene E., Lipizzi E. et al. Sleep deprivation reduces perceived emotional intelligence and constructive thinking skills. *Sleep Med* 9, 517–26 (2008).

41. Harrison Y. and Horne J. Sleep loss impairs short and novel language tasks having a prefrontal focus. *J Sleep Res*7, 95–100 (1998).
42. Heuer H., Kohlisch O. and Klein W. The effects of total sleep deprivation on the generation of random sequences of key-presses, numbers and nouns. *Q J Exp Psychol*58, 275–307 (2005).
43. Steven J., Patihis L., Loftus E. et al. Sleep deprivation and false memories. *Psychol Sci*25, 1674–81 (2014).
44. Balkin T., Rupp T., Picchioni D. et al. Sleep loss and sleepiness: current issues. *Chest*134, 653–660 (2008).
45. Minkel J., Htaik O., Banks S. et al. Emotional expressiveness in sleep-deprived healthy adults. *Behav Sleep Med*9, 5–14 (2011).
46. Minkel J., Banks S., Htaik O. et al. Sleep deprivation and stressors: evidence for elevated negative affect in response to mild stressors when sleep deprived. *Emotion*12, 1015–20 (2012).
47. Kribbs, N. and Dinges D. Performing while sleepy: effects of experimentally-induced sleepiness. *Sleep, sleepiness and performance*. 42, 97–128 (1991).
48. Doran S., Van Dongen H. and Dinges D. Sustained attention performance during sleep deprivation: evidence of state instability. *Arch Ital Biol* 139, 253–67 (2001).
49. Kleitman, N. Sleep and wakefulness. *Chicago Univ. Chicago* (1963).
50. Chee M., Tan J., Zheng H. et al. Lapsing during sleep deprivation is associated with distributed changes in brain activation. *J Neurosci* 28, 5519–28 (2008).
51. Dorrian J., Rogers N. and Dinges. D. Psychomotor vigilance performance: neurocognitive assay sensitive to sleep loss. In *Sleep deprivation* (ed. C, K.) (Marcel Dekker, 2005).
52. Lim J. and Dinges D. Sleep deprivation and vigilant attention. *Ann N Y Acad Sci* 1129, 305–22 (2008).
53. Torterolo P., Sampogna S. and Chase M. A restricted parabrachial pontine region is active during non-rapid eye movement sleep. *Neuroscience* 190, 184–193 (2011).
54. Falconi A., Gutiérrez M., Benedetto L. et al. Waking-promoting action of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). *Sleep Sci*. 6, 9–15 (2013).
55. Tobler I. and Borbély A. Sleep EEG in the rat as a function of prior waking. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 64 (1): 74–76 (1986).
56. Berger R. and Oswald I. Effects of sleep deprivation on behaviour, subsequent sleep, and dreaming. *J. Ment. Sci.* 108, 457–465 (1962).
57. Lucidi F., Devoto A., Violani C. et al. Effects of different sleep duration on delta sleep in recovery nights. *Psychophysiology* 34, 227–233 (1997).
58. Borbély A., Daan S., Wirz-Justice A. et al. The two-process model of sleep regulation: a reappraisal. *J. Sleep Res.*2 5, 131–143 (2016).
59. Endo T., Schwierin B., Borbély A. et al. Selective and total sleep deprivation: effect on the sleep EEG in the rat. *Psychiatry Res.* 66, 97–110 (1997).
60. Ursin, R. Differential effect of sleep deprivation on the two slow wave sleep stages in the cat. *Acta Physiol. Scand.* 83, 352–361 (1971).
61. Takahashi Y., Ebihara S., Nakamura Y. et al. Temporal distributions of delta wave sleep and rem sleep during recovery sleep after 12-h forced wakefulness in dogs; similarity to human sleep. *Neuroscience letters* vol. 10 329–334 (1978).
62. Tobler I., Franken P. and Scherschlicht R. Sleep and EEG spectra in the rabbit under baseline conditions and following sleep deprivation. *Physiol. Behav.* 48, 121–129 (1990).
63. Benington J. and Heller H. Does the function of REM sleep concern non-REM sleep or waking? *Prog. Neurobiol.* 44, 433–449 (1994).

64. Everson, C. Sleep Deprivation in the Rat : IX Recovery. 12, 5–12 (1989).
65. Vimont-Vicary P., Jouvett-Mounier D. and Delorme F. EEG and behavioral effects of deprivation of paradoxical sleep in cats. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 20, 439–449 (1966).
66. Tobler I. and Borbély A. The effect of 3-h and 6-h sleep deprivation on sleep and EEG spectra of the rat. *Behav Brain Res* 36, 73–78 (1990).
67. Sallanon M., Janin M., Buda C. et al. Serotonergic mechanisms and sleep rebound. *Brain Res.* 268, 95–104 (1983).
68. Cappuccio F., Cooper D., D'Elia L. et al. Sleep duration predicts cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur. Heart J.* 32, 1484–1492 (2011).
69. Dettoni J., Marciano F., Drager L. et al. Cardiovascular effects of partial sleep deprivation in healthy volunteers. *J. Appl. Physiol.* 113, 232–236 (2012).
70. Sauvet F., Leftheriotis G., Gomez-Merino D. et al. Effect of acute sleep deprivation on vascular function in healthy subjects. *J. Appl. Physiol.* 108, 68–75 (2010).
71. Chen W., Shi X., Yang T. et al. Protective effect of metoprolol on arrhythmia and heart rate variability in healthy people with 24 hours of sleep deprivation. *J. Interv. Card. Electrophysiol.* 36, 267–272 (2013).
72. Zhong X., Hilton H., Gates G. et al. Increased sympathetic and decreased parasympathetic cardiovascular modulation in normal humans with acute sleep deprivation. *J. Appl. Physiol.* 98, 2024–2032 (2005).
73. Grimaldi D., Carter J., Van Cauter E. et al. Adverse Impact of Sleep Restriction and Circadian Misalignment on Autonomic Function in Healthy Young Adults. *Hypertension* 68, 243–250 (2016).
74. Sgoifo A., Buwalda B., Roos M. et al. Effects of sleep deprivation on cardiac autonomic and pituitary-adrenocortical stress reactivity in rats. 197–208 (2006).
75. Chang H., Mai F., Lei S. et al. Impaired sodium levels in the suprachiasmatic nucleus are associated with the formation of cardiovascular deficiency in sleep-deprived rats. *J. Anat.* 217, 694–704 (2010).
76. Yang Y., Liu Y., Hsieh M. et al. Effects of prolonged paradoxical sleep deprivation with or without acute cold stress on hemodynamic perturbations in rats. *Stress* 21, 520–527 (2018).
77. Karadzic V. and Dement W. Heart rate changes following selective deprivation of rapid eye movement (REM) sleep. *Brain Res.* 6, 786–788 (1967).
78. Almeida F., Perry J., Futuro-Neto H. et al. Cardiovascular function alterations induced by acute paradoxical sleep deprivation in rats. *Clin. Exp. Hypertens.* 36, 567–571 (2014).
79. Perry J., Bergamaschi C., Campos R. et al. Sympathetic and angiotensinergic responses mediated by paradoxical sleep loss in rats. (2011).
80. Glos M., Fietze I., Blau A. et al. Cardiac autonomic modulation and sleepiness: physiological consequences of sleep deprivation due to 40 h of prolonged wakefulness. *Physiol. Behav.* 125, 45–53 (2014).
81. Kuo T., Lai C., Chen C. et al. The high-frequency component of heart rate variability during extended wakefulness is closely associated with the depth of the ensuing sleep in C57BL6 mice. *Neuroscience* 330, 257–266 (2016).
82. Radulovacki M., Trbovic S. and Carley D. Cardiopulmonary interactions following REM sleep deprivation in Sprague-Dawley rats. *Exp. Neurol.* 145, 371–375 (1997).
83. Mishina M., Watanabe N. and Watanabe T. Diurnal variations of blood pressure in cats. *J. Vet. Med. Sci.* 68, 243–248 (2006).

84. Burgess H., Trinder J., Kim Y. *et al.* Sleep and circadian influences on cardiac autonomic nervous system activity phase humans with acute sleep deprivation. (2012).
85. Sastre J. and Jouvet M. Oneiric behavior in cats. *Physiol Behav* 22, 979–989 (1979).
86. Saper C., Fuller P., Pedersen N. *et al.* Sleep state switching. *Neuron* 68, 1023–1042 (2010).
87. Castro-Zaballa S., Cavelli M., Vollono P. *et al.* Inter-hemispheric coherence of neocortical gamma oscillations during sleep and wakefulness. *Neurosci. Lett.* 578, 197–202 (2014).
88. Torterolo P., Castro-Zaballa S., Cavelli M. *et al.* Neocortical 40 Hz oscillations during carbachol-induced rapid eye movement sleep and cataplexy. *Eur J Neurosci* Feb, 580–589 (2016).
89. Torterolo P., Castro-Zaballa S., Cavelli M. *et al.* Heart rate variability during carbachol-induced REM sleep and cataplexy. *Behav. Brain Res.* 291, 72–79 (2015).
90. Berman A. and Jones E. The thalamus and basal telencephalon of the cat. A citoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates. *Univ. Wisconsin, Madison* (1982).
91. Ursin R. and Serman M. Manual for Standardized Scoring of Sleep and Waking States in Adult Cats. *BIS/BRI Univ. California, Los Angeles.* (1981).
92. Rivas M., Serantes D., Peña F. *et al.* Role of Hypocretin in the Medial Preoptic Area in the Regulation of Sleep, Maternal Behavior and Body Temperature of Lactating Rats. *Neuroscience* 475, 148–162 (2021).
93. Mondino A., Hambrecht-Wiedbusch V., Li D. *et al.* Glutamatergic neurons in the preoptic hypothalamus promote wakefulness, destabilize nrem sleep, suppress rem sleep, and regulate cortical dynamics. *J. Neurosci.* 41, 3462–3478 (2021).
94. Mondino A., González J., Li D. *et al.* Urethane anaesthesia exhibits neurophysiological correlates of unconsciousness and is distinct from sleep. *Eur. J. Neurosci.* 1–19 (2022).
95. Benedetto L., Rivas M., Peña F. *et al.* Local administration of bicuculline into the ventrolateral and medial preoptic nuclei modifies sleep and maternal behavior in lactating rats. *Physiol. Behav.* 238, (2021).
96. González J., Cavelli M., Mondino A. *et al.* Breathing modulates gamma synchronization across species. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* (2022)
97. Peña F., Rivas M., Serantes D. *et al.* Is sleep critical for lactation in rat? *Physiol. Behav.* 258, (2023).
98. Migliaro E., Contreras P., Bech S. *et al.* Relative influence of age, resting heart rate and sedentary life style in short-term analysis of heart rate variability. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34, 493–500 (2001).
99. Baust W. and Bohnert B. The Regulation of Heart Rate During Sleep. *Exp. Brain Res.* 7, 169–180 (1969).
100. Del Bo A., Ledoux J., Tucker L. *et al.* Arterial pressure and heart rate changes during natural sleep in rat. *Physiol. Behav.* 28, 425–429 (1982).
101. Yang C., Shaw F., Lai C. *et al.* Relationship between electroencephalogram slow-wave magnitude and heart rate variability during sleep in rats. *Neurosci. Lett.* 336, 21–24 (2003).
102. Parmeggiani, P. Physiologic regulation in sleep. *Principles and practices of sleep medicine.* 185–191 (Elsevier-Saunders, 2005).
103. Berlad I., Shlitner A., Ben-Haim S. *et al.* Power spectrum analysis and heart rate variability in Stage 4 and REM sleep: evidence for state-specific changes in autonomic dominance. *J. Sleep Res.* 2, 88–90 (1993).
104. Ako M., Kawara T., Uchida S. *et al.* Correlation between electroencephalography and heart rate variability during sleep. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 57, 59–65 (2003).
105. Bonnet M. and Arand D. Heart rate variability: sleep stage, time of night, and arousal

- influences. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 102, 390–396 (1997).
106. Jurysta F., Van de Borne P., Migeotte P. et al. A study of the dynamic interactions between sleep EEG and heart rate variability in healthy young men. *Clin. Neurophysiol.* 114, 2146–2155 (2003).
  107. Kato M., Phillips B., Sigurdsson G. et al. Effects of sleep deprivation on neural circulatory control. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 35, 1173–1175 (2000).
  108. Mullington J., Haack M., Toth M. et al. Cardiovascular, inflammatory, and metabolic consequences of sleep deprivation. *Progress in Cardiovascular Disease.* 51(4):294-302. (2009).
  109. Sayk F., Teckentrup C., Becker C. et al. Effects of selective slow-wave sleep deprivation on nocturnal blood pressure dipping and daytime blood pressure regulation. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 298, 191–197 (2010).
  110. Desseilles M., Dang Vu T., Laureys S. et al. A prominent role for amygdaloid complexes in the Variability in Heart Rate (VHR) during Rapid Eye Movement (REM) sleep relative to wakefulness. *Neuroimage* 32, 1008–1015 (2006).
  111. Silvani A. and Lenzi P. Chapter: Reflex cardiovascular control in sleep. Book: *The Physiologic Nature of Sleep* (ed. R.A., P. P. L. and V.) 322–349 (2005).
  112. Silvani A. Physiological sleep-dependent changes in arterial blood pressure: Central autonomic commands and baroreflex control. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 35, 987–994 (2008).
  113. Guilleminault C., Pool P., Motta J. et al. Sinus arrest during REM sleep in young adults. *N. Engl. J. Med.* 311, 1006–1010 (1984).
  114. Dickerson L., Huang A., Thurnher M. et al. Relationship between coronary hemodynamic changes and the phasic events of rapid eye movement sleep. *Am. Sleep Disorders Association and Sleep Research Society. Sleep*, 16 (6):550-557, (1993).
  115. Verrier R., Lau T., Walloppillai U. et al. Primary vagally mediated decelerations in heart rate during tonic rapid eye movement sleep in cats. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 274, (1998).
  116. Futuro-Neto H., Coote J. et al. Changes in sympathetic activity to heart and blood vessels during desynchronized sleep. *Brain Res.* 252, 259–268 (1982).
  117. Miki, K. and Yoshimoto, M. Sympathetic nerve activity during sleep, exercise, and mental stress. *Auton. Neurosci.* 174, 15–20 (2013).
  118. Luppi P., Clement O., Sapin E. et al. Brainstem mechanisms of paradoxical (REM) sleep generation. *Pflugers Arch.* 463, 43–52 (2012).
  119. Verret L., Léger L., Fort P. et al. Cholinergic and noncholinergic brainstem neurons expressing Fos after paradoxical (REM) sleep deprivation and recovery. *Eur. J. Neurosci.* 21, 2488–2504 (2005).
  120. Burgess H., Trinder J., Kim Y. et al. Sleep and circadian influences on cardiac autonomic nervous system activity. *Am. J. Physiol* 273, 1761–1768 (1997).
  121. Trinder J., Kleiman J., Carrington M. et al. Autonomic activity during human sleep as a function of time and sleep stage. *J. Sleep Res.* 10, 253–264 (2001).
  122. Torterolo P. Sobre los sueños. *Anales de la Facultad de Medicina.* 7, (2020).
  123. Borbély A. and Achermann P. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J. Biol. Rhythms* 14, 557–568 (1999).
  124. Torterolo P. and Vanini G. Nuevos conceptos sobre la generación y el mantenimiento de la vigilia. *Rev. Neurol.* 50, 747–758 (2010).
  125. Torterolo P., Benedetto L. and Monti, J. Functional Interactions Between MCHergic and Dopaminergic Neurons: Role in the Control of Wakefulness and Sleep. *Dopamine and Sleep:*

- Molecular, Functional, and Clinical Aspects, 2016 p 47–63. Springer International Publishing.
126. Jacobs B. and Fornal C. Brain serotonergic neuronal activity in behaving cats. In *Serotonin and Sleep: Molecular, Functional and Clinical Aspects: 185–204* (Birkhäuser Basel, 2008).
  127. Jones, B. *Basic Mechanisms of Sleep-Wake States. Principles and Practice of Sleep Medicine* 136–153 (2005).
  128. Torterolo P., Monti J. and Pandi-Perumal S. Role of Orexin on Sleep: Interactions with Other Neurotransmitter Systems. *Orexin and Sleep.* (ed. Springer, C.) 181–202 (2015).
  129. Torterolo P. and Chase M. The hypocretins (orexins) mediate the ‘phasic’ components of REMsleep: A new hypothesis. *Sleep Sci.* 1, 19–29 (2014).
  130. Boucetta S., Cissé Y., Mainville L. et al. Discharge profiles across the sleep-waking cycle of identified cholinergic, GABAergic, and glutamatergic neurons in the pontomesencephalic tegmentum of the rat. *J. Neurosci.* 34, 4708–4727 (2014).
  131. Vanini G., Wathen B., Lydic R. et al. Endogenous GABA levels in the pontine reticular formation are greater during wakefulness than during rapid eye movement sleep. *J. Neurosci.* 31, 2649–2656 (2011).
  132. Szymusiak R., Gvilia I. and McGinty D. Hypothalamic control of sleep. *Sleep Med.* 8, 291–301 (2007).
  133. Anaclet C., Ferrari L., Arrigoni E. et al. The GABAergic parafacial zone is a medullary slow wave sleep–promoting center. *Nat. Neurosci.* 17, 1217–1224 (2014).
  134. Kumar S., Rai S., Hsieh K-C et al. Adenosine A2A receptors regulate the activity of sleep regulatory GABAergic neurons in the preoptic hypothalamus. *AJP Regul. Integr. Comp. Physiol.* 305, R31–R41 (2013).
  135. Calvo J., Simon-Arceo K. and Fernandez-Mas R. Prolonged enhancement of REM sleep produced by carbachol microinjection into the amygdala. *Neuroreport* 7, 577–580 (1996).
  136. Torterolo P., Lagos P. and Monti J. Melanin-concentrating hormone: A new sleep factor? *Front. Neurol.* MAR, 1–12 (2011).
  137. Torterolo P., Scorza C., Lagos P., et al. Melanin-Concentrating Hormone (MCH): Role in REM Sleep and Depression. *Front Neurosci* (2015).
  138. Torterolo P. Bases neuroquímicas del sueño. *Sueño en Pediatría* (2017).
  139. Gelpi R. and Buchholz B. *Neurocardiología: Aspectos fisiopatológicos e implicaciones clínicas.* (Elsevier, 2018).
  140. Fouad F., Tarazi R, Ferrario C. et al. Assessment of parasympathetic control of heart rate by a noninvasive method. *Am J Physiol.* 246(6 Pt 2):H838–42. (1984).
  141. Montano N., Cogliati C., Porta A. et al. Central vagotonic effects of atropine modulate spectral oscillations of sympathetic nerve activity. *Circulation.* 98, 1394–9 (1998).
  142. Tarvainen M., Lipponen J., Niskanen J. et al. Kubios HRV version 3.3: User’s Guide. 40 (2019).
  143. Hirooka Y., Polson J., Potts P. et al. Hypoxia-induced Fos expression in neurons projecting to the pressor region in the rostral ventrolateral medulla. *Neuroscience* 80, 1209–1224 (1997).
  144. Guyenet P. and Koshiya N. Working model of the sympathetic chemoreflex in rats. *Clin. Exp. Hypertens.* 17, 167–179 (1995).
  145. Berne and Levy. *Fisiología. Regulación del corazón y la vasculatura.* In *Berne and Levy Fisiología* (eds. Bruce M. Koeppen, MD, P. and Bruce A. Stanton, P.) 370–392 (2009).
  146. La Rovere M., Gnemmi, M. and Vaccarini, C. Baroreflex sensitivity. *Ital. Heart J. Suppl.* 2, 472–477 (2001).
  147. Swenne C. Baroreflex sensitivity: Mechanisms and measurement. *Netherlands Hear. J.* 21, 58–60 (2013).
  148. Silvani A. and Dampney R. Central control of cardiovascular function during sleep. *Am. J.*

- Physiol. - Hear. Circ. Physiol. 305, (2013).
149. Spyer K., Lambert J. and Thomas T. Central nervous system control of cardiovascular function: Neural mechanisms and novel modulators. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 24, 743–747 (1997).
  150. Oppenheimer S., Gelb A., Girvin J. et al. Cardiovascular effects of human insular cortex stimulation. *Neurology* 42, 1727–1732 (1992).
  151. Datta S., Siwek D., Patterson E. et al. Localization of pontine PGO wave generation sites and their anatomical projections in the rat. *Synapse* 30, 409–423 (1998).
  152. Ni H., Zhang J., and Harper R. Cardiovascular-related discharge of periaqueductal gray neurons during sleep-waking states. *Brain Res.* 532, 242–248 (1990).
  153. Dampney R., Coleman M., Fontes M. et al. Central Mechanisms Underlying Short- and Long-Term Regulation of the Cardiovascular System. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29, 261–268 (2002).
  154. Dampney R., Blessing W. and Tan E. Origin of tonic GABAergic inputs to vasopressor neurons in the subretrofacial nucleus of the rabbit. *J. Auton. Nerv. Syst.* 24, 227–239 (1988).
  155. Dampney R. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol. Rev.* 74, 323–364 (1994).
  156. Sun M. Pharmacology of reticulospinal vasomotor neurons in cardiovascular regulation. *Pharmacol. Rev.* 48, 465–494 (1996).
  157. Andresen M. and Kunze D. Nucleus tractus solitarius--gateway to neural circulatory control. *Annu. Rev. Physiol.* 56, 93–116 (1994).
  158. El Mansari M., Sakai K. and Jouvet M. Unitary characteristics of presumptive cholinergic tegmental neurons during the sleep-waking cycle in freely moving cats. *Exp. brain Res.* 76, 519–529 (1989).
  159. Krout K., Mettenleiter T. and Loewy A. Single CNS neurons link both central motor and cardiosympathetic systems: a double-virus tracing study. *Neuroscience* 118, 853–866 (2003).
  160. Padley J., Kumar N., Li Q. et al. Central command regulation of circulatory function mediated by descending pontine cholinergic inputs to sympathoexcitatory rostral ventrolateral medulla neurons. *Circ. Res.* 100, 284–291 (2007).



## 9. Anexos

### 9.1 Anexo 1. El sueño: funciones, regulación y mecanismos.

#### 9.1.1 Funciones del sueño

Se sostiene que el sueño tendría tres funciones principales y complementarias. Primero, el sueño impide la actividad (tales como búsqueda de agua y alimentos, etc.) en la fase del ciclo luz-oscuridad (día o noche) que no sea óptima para la especie. Este concepto se conoce como "inmovilidad adaptativa". Segundo, conservar la energía durante la fase del ciclo luz-oscuridad adversa para la actividad de la especie. El sueño disminuye el gasto energético; este ahorro energético es muy marcado en animales pequeños que tienen gran actividad durante la vigilia.

Por último, en la fase de quietud y escasa relación con el ambiente (la noche para el ser humano), el sueño es crítico para realizar funciones de mantenimiento ("*house-keeping*" en inglés). Las funciones de mantenimiento incluirían funciones de desarrollo del sistema nervioso, mantenimiento adecuado de las sinapsis (importante para consolidar la memoria), eliminación de productos tóxicos acumulados durante la vigilia y recuperación de depósitos energéticos<sup>122</sup>.

#### 9.1.2 Regulación del ciclo sueño-vigilia

El ciclo sueño-vigilia, está regulado por dos procesos<sup>123</sup>. Uno llamado proceso C, en el que el nivel de alerta está moderado por la actividad de un marcapaso circadiano ubicado a nivel del núcleo supraquiasmático del hipotálamo. El otro es el proceso S, en el que la acumulación de sustancias hipnagógicas en el cerebro generan un control homeostático del sueño. Ambos procesos están influenciados por factores genéticos del individuo y por factores externos (por ejemplo, alimentos, temperatura ambiente, horarios de comidas, siestas, estrés, ejercicio, etc.).

El núcleo supraquiasmático regula el momento de sueño (proceso C), independientemente de la cantidad de sueño o vigilia previa. Su actividad neuronal se sincroniza con el ciclo externo luz-oscuridad y regula los patrones de sueño mediante proyecciones indirectas hacia los sistemas activadores y somnolivos. Por otra parte, la homeostasis del sueño funciona como una especie de temporizador o contador, por el cual se va acumulando presión para dormir durante la W, lo que determina la intensidad del sueño posterior (proceso S). Funciona de manera bastante intuitiva: cuanto más tiempo estamos despiertos, más fuerte se vuelve el deseo y la necesidad de dormir, y aumenta la probabilidad de quedarse dormido. Cuanto más tiempo dormimos, más se disipa la presión para dormir y más aumenta la probabilidad de despertar.

#### 9.1.3 Sistemas que participan en la generación de sueño y vigilia.

##### Sistemas neurales que generan la vigilia (sistemas activadores)

Los sistemas neurales críticos para la generación y el mantenimiento de la W se los conoce como sistemas activadores<sup>124</sup>. Estos están compuestos por grupos neuronales de la formación reticulada (FR) mesopontina, hipotálamo pósterolateral y cerebro basal anterior (BF). Este último incluye el núcleo basalis de Meynert, que está localizado inmediatamente anterior al hipotálamo. Todos ellos proyectan al tálamo y/o corteza cerebral, produciendo activación cortical.

La actividad de todas las neuronas activadoras y la liberación de sus neurotransmisores al espacio sináptico, es máxima durante la W y disminuye durante el sueño NREM. Dado que el sueño REM se caracteriza por activación del EEG que se asocia a una importante actividad cognitiva (sueños), es esperable que parte de los sistemas activadores se mantengan activos en este estado. De hecho, el sistema colinérgico aumenta su actividad durante este estado. Por el contrario, las neuronas que forma parte de los sistemas noradrenérgicos, serotoninérgicos, histaminérgicos e hipocretinérgicos se apagan durante el sueño REM.

Los principales neurotransmisores sintetizados por neuronas que forman parte de los sistemas activadores son los siguientes.

**Noradrenalina:** en el sistema nervioso central (SNC) se encuentra casi exclusivamente en las neuronas del *locus ceruleus* (LC), que es un núcleo de la región mesopontina dorsolateral. Durante W, estas neuronas aumentan notablemente su tasa de disparo frente a un estímulo novedoso, pero la respuesta se reduce después de la habituación; esto condujo a la propuesta que este grupo neuronal regula los procesos atencionales.

**Dopamina:** se encuentra en neuronas cuyos somas se localizan en la sustancia nigra (SN) y el área tegmental ventral (VTA) que se encuentran en el mesencéfalo. Las neuronas dopaminérgicas del VTA proyectan a la corteza prefrontal, mientras que ambos grupos neuronales proyectan al núcleo estriado. Durante la W las neuronas dopaminérgicas descargan en "brotes o trenes" de alta frecuencia en respuesta a un estímulo motivacional, lo que produce una marcada liberación de dopamina hacia el espacio sináptico. Durante el sueño REM, vuelve a aparecer esta descarga en brotes en las neuronas dopaminérgicas del VTA<sup>125</sup>.

**Serotonina:** es sintetizada por neuronas de los núcleos dorsal y medial rafe, situado en la línea media mesopontina, que están activas en W y disminuyen su actividad durante el sueño. Subgrupos de estas neuronas serotoninérgicas se activan durante los movimientos estereotipados como el aseo<sup>126</sup>. A su vez, la estimulación eléctrica del núcleo del rafe dorsal produce una marcada activación del EEG<sup>124</sup>.

**Histamina:** las neuronas histaminérgicas se encuentran sólo en el núcleo tubero-mamilar del hipotálamo posterior y proyectan al tálamo y la corteza. Estas neuronas también son W "on" y sueño REM "off"<sup>124</sup>.

**Acetilcolina (ACh):** las neuronas colinérgicas implicadas en el mantenimiento de la vigilia se encuentran en el núcleo tegmental látero-dorsal y pedúnculo-pontino (LDT-PPT) y en el BF. Mientras que las neuronas del LDT-PPT proyectan hacia el tálamo, las neuronas del BF proyectan principalmente a la corteza cerebral<sup>127</sup>. Se activan durante la W en estrecha relación con la activación cortical. Suprimen su descarga durante el sueño NREM y son reactivadas durante el sueño REM. La activación experimental de estas regiones produce W, mientras su inactivación genera sueño NREM. Las neuronas colinérgicas del BF durante W regulan el procesamiento de la información sensorial, la atención y la memoria.

**Hipocretinas (orexinas):** las hipocretinas 1 y 2 (también llamadas orexinas A y B) son neuropéptidos utilizados como neurotransmisores no-clásicos o neuromoduladores por neuronas localizadas en la región hipotalámica póstero-lateral. Actúan sobre dos tipos de receptores metabotrópicos, ejerciendo efectos excitatorios postsinápticos y presinápticos<sup>128</sup>. La administración intra-cerebral o intra-ventricular de hipocretinas facilita la generación de W. A su vez, varias aproximaciones experimentales han mostrado que estas neuronas se activan principalmente durante la W cuando existe una motivación (explorar un lugar nuevo, la presencia de comida en condiciones de ayuno, etc.); su actividad se reduce durante el sueño NREM y está casi ausente durante el sueño REM tónico. Sin embargo, la actividad neuronal hipocretinérgica parece aumentar en presencia de los componentes fásicos (movimientos oculares, sacudidas musculares, aumentos abruptos de la actividad simpática) característicos del sueño REM<sup>129</sup>. Este sistema tiene una gran importancia clínica, ya que la degeneración de las neuronas hipocretinérgicas es la base patogénica de la narcolepsia con cataplejía.

**Glutamato:** es el neurotransmisor más ubicuo del SNC. Diversas neuronas glutamatérgicas localizadas en distintas áreas juegan un rol importante en el control del ciclo sueño-vigilia. Con respecto a la W, se destacan las neuronas glutamatérgicas que se encuentran en la región meso-

pontina formando parte de los sistemas activadores. Estas neuronas se activan en W y sueño REM, o solamente durante la W<sup>130</sup>.

GABA: las neuronas GABAérgicas se encuentran ampliamente distribuidas en el SNC. Evidencias experimentales sugieren que un aumento de la liberación sináptica de GABA en la FR pontina medial, es necesario para inducir la W<sup>131</sup>.

Existe una importante interrelación anatómica y funcional entre los grupos neuronales que forman parte de los sistemas activadores. Estas neuronas actúan en forma complementaria para generar y mantener la W. Por ejemplo, las neuronas noradrenérgicas, tendrían un papel preponderante durante la vigilia que sostiene procesos atencionales, las neuronas serotoninérgicas sostendrían la vigilia que se acompaña de actividad motora estereotipada y automática, mientras que las neuronas hipocretinérgicas mantendrían una W con alta motivación.

### **Sistemas neurales que generan sueño NREM**

Neuronas del área preóptica (POA) del hipotálamo son críticas en la generación y mantenimiento del sueño NREM<sup>132</sup>. Estas neuronas aumentan su frecuencia de disparo durante el sueño NREM. La estimulación eléctrica del POA induce sueño NREM; gran parte de estas neuronas de POA son GABAérgicas, y proyectan en forma monosináptica a los sistemas activadores suprimiendo su actividad. A su vez, las neuronas de los sistemas activadores inhiben las neuronas del POA. A nivel de la FR bulbar (región parafacial), también existirían neuronas GABAérgicas necesarias para la generación del sueño NREM<sup>133</sup>.

El proceso S determina que la vigilia prolongada facilite la generación de sueño. Diferentes líneas de investigación han demostrado que durante la vigilia prolongada se liberan al espacio sináptico sustancias, como la adenosina, que promueven el sueño. La adenosina promueve sueño inhibiendo los sistemas activadores y estimulando las neuronas del POA, promotora del sueño NREM<sup>134</sup>.

### **Sistemas neurales que generan sueño REM**

Las redes neuronales necesarias y suficientes para la generación y mantenimiento del sueño REM se encuentran en la FR meso-pontina. De hecho, las mismas neuronas meso-pontinas que juegan un rol en el mantenimiento de la W, también lo tienen en la generación del sueño REM. Las neuronas noradrenérgicas del LC y las neuronas serotoninérgicas del núcleo dorsal del rafe que están activas durante la W, apagan su actividad durante el sueño REM (neuronas sueño REM "off"). Estas neuronas se consideran "permissivas" para la generación del sueño REM; tienen que inhibirse para que el sueño REM se genere<sup>124</sup>.

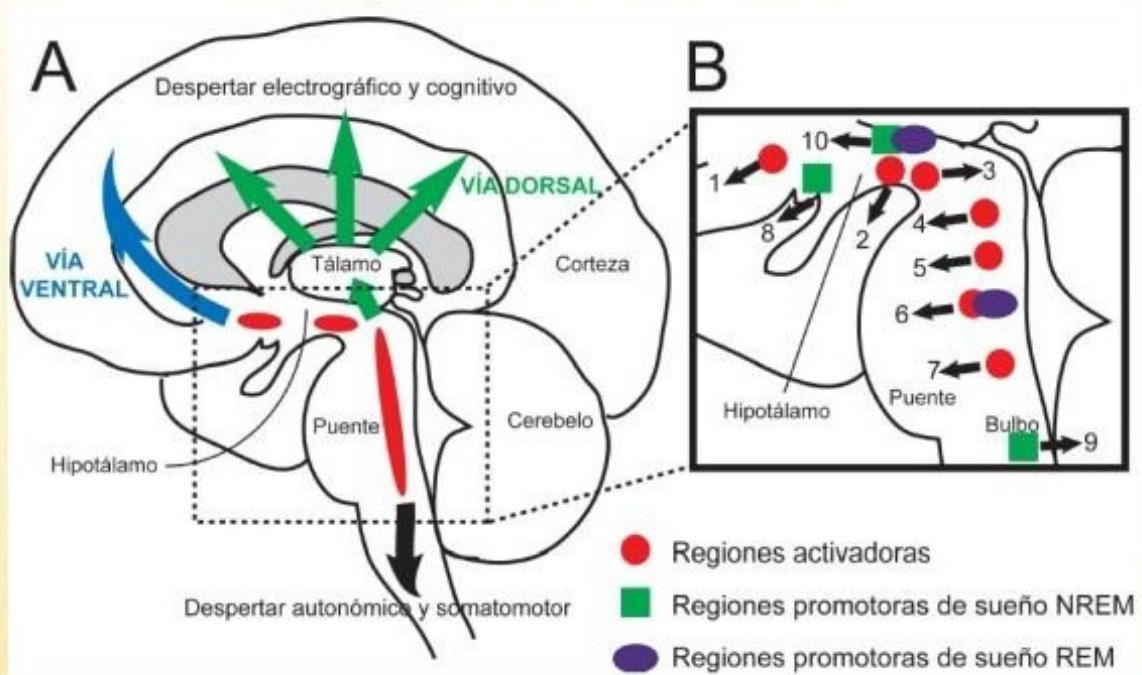
En los seres humanos, el aumento de los niveles sinápticos de Ach producida por inhibidores de acetil-colinesterasa produce activación cortical cuando es administrada durante la W, mientras que el sueño REM se precipita si este fármaco se aplica durante el sueño NREM, sugiriendo un papel bimodal de neuronas colinérgicas; promover la generación de W y el sueño REM. En relación a esto, las neuronas colinérgicas del LDT-PPT y BF no solo aumentan su tasa de disparo durante la W, sino que también lo hacen durante el sueño REM, lo que contribuye a la activación cortical de este estado. Las neuronas colinérgicas del LDT-PPT también proyectan a la FR pontina medial, que es considerada el "área ejecutiva" para la generación del sueño REM. La liberación de Ach dentro de esta área promueve el sueño REM<sup>127</sup>. La activación colinérgica del núcleo central de la amígdala también facilita la ocurrencia de sueño REM<sup>135</sup>.

Las neuronas GABAérgicas de varias regiones del área meso-pontina también juegan un papel importante en la generación del sueño REM<sup>124</sup>. De hecho, hay modelos que proponen que la generación del sueño REM depende de la actividad de estas neuronas GABAérgicas meso-pontinas.

En el hipotálamo posterior y lateral (entremezcladas con las neuronas hipocretinérgicas) hay neuronas que utilizan al neuropéptido hormona concentradora de melanina (MCH) como neurotransmisor no clásico o neuromodulador<sup>136</sup>. Estas neuronas proyectan a amplias regiones del SNC, incluyendo el tálamo, la corteza y los sistemas activadores. Las neuronas MCHérgicas apenas descargan durante la vigilia, aumentan su tasa de disparo durante el sueño NREM para llegar a un máximo durante el sueño REM. Diversas aproximaciones experimentales sugieren que estas neuronas promueven tanto el sueño NREM con el sueño REM. Estudios recientes han demostrado que la MCH suprime la actividad de las neuronas serotoninérgicas del núcleo dorsal del rafe. Este hallazgo podría explicar, al menos en parte, la promoción del sueño REM inducida por MCH. La supresión de la actividad serotoninérgica por la MCH podría explicar también el efecto pro-depresivo de este neuropéptido<sup>137</sup>. Antagonistas de la MCH se están probando como fármacos antidepresivos.

La Figura 16 muestra un esquema de las regiones activadoras de W y promotoras de sueño NREM y REM.

### Esquema de los sistemas activadores



**A.** La localización anatómica aproximada de los sistemas activadores se muestra en rojo. Los sistemas activadores son un grupo heterogéneo de neuronas, que utilizan distintos neurotransmisores. Las vías activadoras ascendentes dorsal (que llega al tálamo influyendo este sobre la corteza cerebral) y ventral (que llega directamente a la corteza cerebral) se muestran en verde y en azul, respectivamente. Mediante estas vías los sistemas activadores modulan el nivel de vigiliencia y las funciones cognitivas. A su vez, proyecciones descendentes regulan la actividad motora, ventilatoria y autonómica. Por proyecciones al hipotálamo (no se muestra) los sistemas activadores también regula la actividad endócrina.

**B.** Esquema de los grupos neuronales activadores, promotores de sueño REM y NREM. Las neuronas que forman los sistemas activadores (en rojo) se encuentran en el cerebro basal anterior, hipotálamo posterior y formación reticulada mesopontina y utilizan distintos neurotransmisores. Los números identifican distintos grupos neuronales: 1. Cerebro basal anterior, neuronas colinérgicas; 2. Hipotálamo postero-lateral, neuronas hipocretinérgicas; 3. Núcleo túbero-mamilar del hipotálamo, neuronas histaminérgicas; 4. Área tegmental ventral y sustancia negra, neuronas dopaminérgicas; 5. Núcleo dorsal y medial del rafe, neuronas serotoninérgicas; 6. Núcleo tegmental látero-dorsal y pedúnculo-pontino (LDT-PPT), neuronas colinérgicas; 7. Locus coeruleus, neuronas noradrenérgicas. En verde se indican las regiones promotoras del sueño NREM: la región preóptica del hipotálamo (8); el núcleo parafacial (9) y las neuronas MCHérgicas del hipotálamo póstero-lateral (10). Las neuronas colinérgicas del LDT-PPT (6) y MCHérgicas (10) que también promueven el sueño REM, se muestran en azul.

**Figura 16.** Esquema de los sistemas activadores.<sup>138</sup>

## 9.2 Anexo 2 - Sistema nervioso autónomo y actividad cardíaca

El sistema nervioso autónomo (SNA) participa en el mantenimiento de la homeostasis. Para su funcionamiento cuenta con un receptor, una vía aferente que conduce lo detectado por el receptor, un centro integrador de la información, una vía eferente a través de la cual se transmite la señal hacia el efector y un tejido especializado en la respuesta<sup>139</sup>.

La FC y su modulación están primariamente determinadas por alteraciones en el tono autonómico. La VFC constituye un correlato de la función del SNA<sup>140,141</sup>. Frente a un aumento de actividad simpática, hay un período de latencia de aproximadamente 5 segundos seguidos de un

progresivo incremento en la FC que alcanza un nivel estable en 20 o 30 segundos. Esto contrasta con las respuestas vagales que son casi instantáneas; incrementos en el tono parasimpático o vagal disminuye la FC.

En la mayoría de las situaciones, hay una actividad tónica de ambas divisiones del SNA y el efecto neto de la FC representa el balance entre los dos efectos antagonistas<sup>142</sup>.

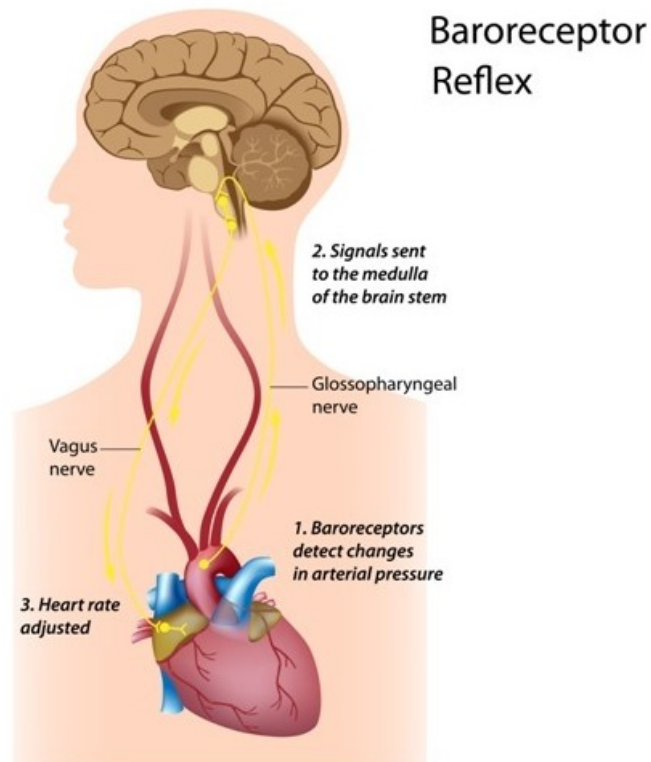
### 9.2.1 Regulación periférica y central de la frecuencia cardíaca

El control neural del sistema cardiovascular se logra mediante el flujo de salida autónomo hacia el corazón (simpático y parasimpático) y los vasos (simpático). El flujo de salida autónomo incluye la contribución refleja de factores periféricos, como los barorreceptores, quimiorreceptores, receptores térmicos, aferentes pulmonares, etc. También incluye los comandos centrales que se modifican en función del estado comportamental (W, sueño NREM y sueño REM).

A nivel periférico la FC es regulada principalmente por la actividad de quimiorreceptores y barorreceptores. Los quimiorreceptores están situados en el cuerpo carotídeo y aórtico. Su actividad aumenta ante hipoxia, hipercapnia o acidemia, genera un aumento en la frecuencia y en la profundidad de la respiración, con escaso efecto sobre la FC. También puede generar vasoconstricción mediada por el simpático en la mayoría de los lechos vasculares (excluyendo el cerebro y el corazón). El aumento en la ventilación aumenta la difusión de oxígeno a la sangre, mientras que la vasoconstricción simpática reduce el consumo de oxígeno por los tejidos y, así, conserva el oxígeno disponible<sup>143</sup>. Si la respiración es controlada, la estimulación del quimiorreceptor carotídeo causa una larga y consistente bradicardia. Las fibras aferentes de los quimiorreceptores terminan en el núcleo del tracto solitario (NTS) y proyectan a las neuronas presimpáticas de la médula rostral ventrolateral (RVLM) a través de una sinapsis glutamatérgica<sup>143,144</sup>.

Los barorreceptores están situados en la adventicia de algunas arterias, particularmente en el seno carotídeo y el arco aórtico. El incremento en la presión en dichos vasos incrementa la descarga de sus nervios aferentes abruptamente, pero se adapta rápidamente a una tasa de descarga que puede ser moderadamente elevada. La importancia de los barorreceptores es que pueden regular la FC latido a latido, efecto mediado por el vago. También pueden regular más lentamente el flujo de salida simpático. La relación entre la presión de distensión del barorreceptor y la FC tiene una forma gráfica sigmoide<sup>145</sup>. Los impulsos aferentes de los barorreceptores arteriales alcanzan el NTS y modulan la actividad eferente vagal y simpática hacia el corazón y los vasos. Los efectos autónomos del barorreflejo en el sistema cardiovascular representan un control de retroalimentación negativa (Figura 17). Un aumento en la PA ralentiza el ritmo cardíaco, reduce la contractilidad cardíaca y disminuye la resistencia periférica y de los vasos de capacitancia.

La SBR se define como el cambio en el intervalo R-R en ms por cada mmHg de aumento de la PA<sup>146,147</sup>. El control barorreflejo de la actividad simpática se altera en diferentes estados de comportamiento, incluido el sueño<sup>117</sup>. La SBR alcanza un máximo durante el sueño NREM resultante en una menor variabilidad a corto plazo de la PA y la FC, comparado con la vigilia<sup>148</sup>.



**Figura 17.** Funcionamiento del reflejo barorreceptor. (Imagen disponible en <https://es.dreamstime.com/fotograf%C3%ADa-de-archivo-regulaci%C3%B3n-de-la-presi%C3%B3n-arterial-image23875552#> , Fecha de consulta 18/02/21)

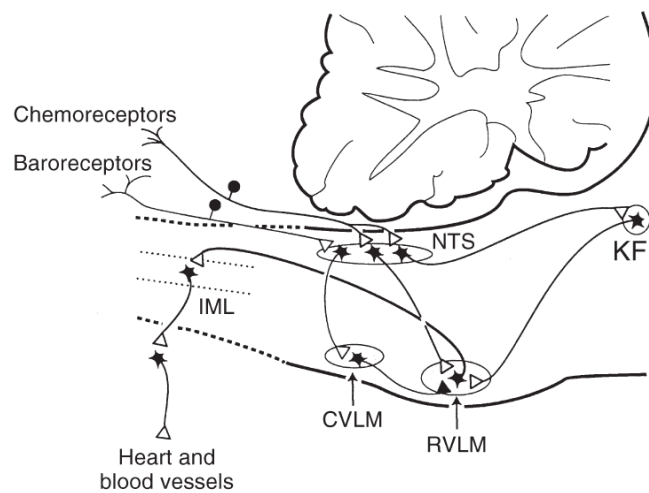
El sistema nervioso central (SNC) impone comandos autónomos<sup>149</sup> sobre los efectores cardíacos, vasculares y respiratorios, contribuyendo a adaptar la regulación cardiovascular a las necesidades de comportamiento cambiantes. Los cambios relacionados con el sueño en la función del sistema cardiovascular son principalmente una consecuencia del comando central, tal que cambios en la actividad de las neuronas centrales que regulan los diferentes estados de sueño conducen a alteraciones en la actividad de neuronas preganglionares simpáticas y/o vagales.

En humanos la VFC fue primeramente relacionada con la actividad de la corteza insular, un área involucrada en el procesamiento central de varias modalidades sensoriales, conectada anatómicamente y funcionalmente con centros autonómicos involucrados en la regulación de la FC, como la amígdala y el hipotálamo. Su estimulación eléctrica provoca cambios en la FC y la PA<sup>150</sup>. La conectividad funcional entre la amígdala y la corteza insular difiere significativamente en el sueño REM en comparación a la W. Es probable que la ínsula y la amígdala regulen la actividad cardiovascular durante el sueño REM, siendo esta última una parte integral de las redes cerebrales que generan y mantienen este estado<sup>151</sup> (Anexo 9.1.3). Esto sugiere una reorganización funcional de la regulación cardiovascular central durante el sueño REM.

El hipotálamo, el PBN, y el núcleo central de la amígdala proyectan fuertemente a la sustancia gris periacueductal (SGPA), la cual juega un rol en la regulación de la actividad cardiovascular, principalmente en circunstancias de estrés, defensa, o afectivas, más que en el control basal<sup>152</sup>. Sus neuronas muestran un patrón de descarga modulado por el ciclo cardíaco, que es específico para cada estado de sueño-vigilia. Sin embargo, estas tienen una mayor descarga tónica y participación en la integración de la variabilidad cardíaca en el sueño REM<sup>152</sup>. La SGPA tiene proyecciones recíprocas con el NTS, el cual recibe aferencias de los barorreceptores y quimiorreceptores. Las aferencias desde los barorreceptores a las neuronas del NTS provocan la

excitación de neuronas dentro de la región caudal e intermedia de la médula ventrolateral (VLM), las cuales inhiben neuronas simpático-excitadoras (presimpáticas) en el RVLM<sup>153</sup> (Figura 18). Estas neuronas reciben aferencias GABAérgicas<sup>154</sup>, glutamatérgicas y también de otros neuromoduladores<sup>155,156</sup>, y proyectan directamente a neuronas preganglionares simpáticas cardíacas y vasomotoras de la médula espinal torácica y lumbar. El NTS, recibe así entradas de los centros superiores del cerebro, que incluyen la corteza, la amígdala, el área perifornical del hipotálamo y el núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), la sustancia gris periacueductal (SGPA) del mesencéfalo, el PBN y la médula ventrolateral<sup>155</sup>, las cuales podrían modular el funcionamiento del reflejo barorreceptor bajo condiciones particulares<sup>153,157</sup>.

El núcleo del tegmento pedúnculo pontino (PPT), contiene neuronas que son más activas durante el sueño REM y W que durante el sueño NREM<sup>158</sup> (Anexo 9.1.3) y mediante activación de la región simpático-excitadora de la RVLM aumenta la FC. Se sugiere que las neuronas colinérgicas en el PPT pueden contribuir en el aumento de la FC que ocurre durante el ejercicio y el sueño REM<sup>159,160</sup> y a la activación cardiovascular que ocurre en el sueño REM a pesar de la atonía muscular en este estado<sup>86,118</sup>.



**Figura 18.** Vías de control del reflejo barorreceptor y quimiorreceptor<sup>153</sup>.

Vías dentro de la parte inferior del tronco del encéfalo y la médula espinal que sirven al control del flujo simpático al corazón y vasos sanguíneos de los reflejos barorreceptor y quimiorreceptor. (Δ), aferencias sinápticas excitatorias; (▲), aferencias sinápticas inhibitorias. CVLM: médula caudal ventrolateral; IML: columna celular intermedio-lateral de la médula espinal; KF, núcleo Kolliker-Fuse de la región parabraquial pontina; NTS, núcleo del tracto solitario; RVLM, médula rostral ventrolateral.