

Efectos de la administración de melatonina sobre la actividad pontogenículo-occipital (PGO), en el gato reserpinizado

Rafael J. Salín Pascual*
Ignacio Camacho Arroyo*
Gabriel Roldán Roldán*
Jacinto Manjarrez**
Raúl Alvarado**

Summary

The effect of pharmacological doses of Melatonin on Pontogeniculo-Occipital activity (PGO) were explored in reserpinized cat. After 17 hrs. of 1 mg/kg reserpine, an "encephale isolé" cat acute preparation was used. Different doses of Melatonin produced a decrease on PGO induced reserpine activity with an inhibitory response related to Melatonin doses. We suggest that Melatonin can play an inhibitory role in the appearance of PGO activity mediated by an increase on serotonin levels in brain stem. Other possibilities are the direct interaction of Melatonin with a receptor at membrane or subcellular levels and a broad mechanism like calcium mobilization with a secondary change at different mechanisms of synaptic biochemistry.

Resumen

Se analizan los efectos de la administración de melatonina a dosis farmacológicas, sobre la actividad pontogenículo-occipital (PGO) del gato reserpinizado. Los experimentos se realizaron en gatos en preparación aguda, anestesiados con uretano y con respiración artificial, pretratados con reserpina (1 mg/kg ip) 17 horas antes del experimento.

Después de un periodo de control, se administró melatonina a dosis de 0.5, 1, 10 y 50 mg/kg (iv) o vehículo. Se cuantificó la frecuencia por minuto de espigas PGO y se comprobaron ambas situaciones (control vs melatonina). Observamos una disminución de la frecuencia de espigas PGO conforme se incrementaba la dosis de melatonina, mientras que el vehículo no provocó modificaciones.

Estos resultados sugieren que la melatonina juega un papel inhibitorio sobre la actividad PGO, el cual puede interpretarse en diferentes niveles. Se discuten las interacciones con serotonina, con un posible receptor a melatonina localizado en la membrana celular de células de hipotálamo y a nivel subcelular o por posibles cambios en los diferentes pozos metabólicos de calcio, lo cual trae como resultado una serie de cambios en la bioquímica a nivel sináptico.

Introducción

La hormona melatonina (5 metoxi-N-acetil triptamina) es sintetizada y secretada principalmente en la glándula pineal de los mamíferos, con un ritmo circadiano, en donde el pico máximo de secreción se observa durante la noche (25). Lo anterior se debe a la variación circadiana de la actividad de la enzima limitante de la síntesis melatonina, la N-acetilserotonina (NAT), la cual incrementa su actividad durante el escoto-periodo (15,20).

El papel de la melatonina en la fisiología de los mamíferos parece estar en diferentes niveles. Se sabe que interviene en funciones de tipo circadiano, en la regulación de los periodos de fertilidad de los animales procreadores anuales y en funciones de inmunomodulación y analgesia (21).

Dentro de los aspectos circadianos en que se ha involucrado a esta indolamina, destaca el ciclo sueño-vigilia. Marczyński y cols (16) administraron cristales de melatonina (15-30 mg) a gatos, directamente en la región preóptica, en el núcleo *centralis medialis* y en la formación reticular. El resultado fue una sincronización del electroencefalograma y una inducción rápida al sueño. Por otra parte, se ha reportado que la administración de estas hormonas a polluelos hace que adopten una posición típica del sueño en aves (4). Cuando se efectuaron registros polisomnográficos en aves, se reportó un aumento del sueño de ondas lentas (11).

Antón-Tay y cols (2) administraron melatonina (0.25 a 1.25 mg/kg de peso) a sujetos voluntarios sanos y observaron una inducción al sueño, entre 15 y 20 min. después de la administración. Fernández Guardiola y Antón-Tay (10) encontraron que cuando se administra melatonina a voluntarios sanos, se observa un aumento del sueño delta con una disminución del número de despertares, todo lo cual trae como resultado un aumento en el índice de eficiencia del sueño. Esto ha sido confirmado por Cramer y cols (8), quienes observaron que la inyección de melatonina redujo la latencia al sueño.

* Depto. de Psicobiología. División de Investigaciones Clínicas. Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calz. México-Xochimilco 101. Tlalpan 14370, México, D.F.

Sección de Graduados. Escuela Superior de Medicina. Instituto Politécnico Nacional.

** Investigaciones Cerebrales. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

Por otra parte, la pinealectomía produce cambios importantes en la cronobiología del sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR). Mouret y cols (18) reportaron que esta maniobra en las ratas abolió la periodicidad ultradiana del SMOR. Salín-Pascual y cols (23) encontraron que la pinealectomía avanzó el ritmo de propensión del SMOR, en la rata, hacia la primera parte del fotoperíodo, y que esto no fue reversible a la administración de melatonina.

Con lo anterior se apoya el hecho de que la melatonina tiene dos efectos principales sobre el sueño. Por un lado, interviene en los aspectos de la continuidad del mismo, aumentando su eficiencia, y por el otro, parece actuar sobre los aspectos circadianos del SMOR. Otros trabajos en el área parecen apoyar estas afirmaciones (26).

El SMOR está caracterizado por dos tipos de fenómenos: por una parte estarían los fenómenos fásicos, aquellos que se presentan en forma de salvas o trenes, como los movimientos oculares rápidos, y por otra, los fenómenos tónicos, que se presentan durante todo el tiempo que dura el SMOR (14). Jouvét y Michel (13) describieron un tipo de actividad fásica que se presenta en el puente, en los núcleos geniculados laterales y en la corteza occipital, justo antes del inicio del SMOR y mientras este continúa. Esta actividad puede ser inducida con reserpina, fuera del SMOR y aún en vigilia, con las mismas características que se presentan en el SMOR. Diversas manipulaciones de los sistemas serotoninérgicos dan como resultado cambios en la frecuencia de aparición de la actividad PGO (5).

La administración de melatonina en ratas ha sido reportada como un factor que aumenta los niveles de serotonina en diversas regiones del tallo cerebral y el diencefalo (1); por otro lado, los registros multiunitarios de la formación reticular de la rata, han reportado un aumento en la frecuencia de descarga, después de la administración de melatonina (9).

Dado que las PGO son sensibles a las manipulaciones del sistema serotoninérgico (5) y que la melatonina aumenta los niveles de este neurotransmisor en diferentes partes del tallo cerebral y del encéfalo (1,24), se decidió utilizar el modelo del gato reserpiniado, al cual se le induce la aparición de PGO reserpínicas (PGOr), con el objeto de observar los cambios de esta actividad con diferentes dosis de melatonina.

Material y Método

Se utilizaron 22 gatos machos (entre 2 y 3 kg) pretratados con reserpina (1 mg/kg de peso) para inducir la actividad PGO, 17 hrs. antes de iniciar la preparación aguda. Esta última se efectuó con el gato en el estadio II del "Síndrome Reserpínico" (7). Se realizó la preparación de "encéfalo aislado" bajo anestesia profunda. Esta fue inducida con éter y mantenida con uretano, el cual se administró i.v. a razón de 1.5 g/kg de peso. Este anestésico ha sido reportado con poco efecto sobre la actividad neuronal (6). Trabajos previos del laboratorio de uno de nosotros (RA), apoyan esta evidencia. La temperatura corporal se mantuvo a nivel estable (38 GC) mediante un cojinete térmico y los ingresos de líquidos fueron controlados mediante venoclasia (1-2 cc/kg/hr). Se ayudó a la respiración a través de traqueostomía mediante dispositivo mecánico. Después de la exposición de la bóveda del cráneo, se procedió a efectuar trépanos y a colocar electrodos bipolares de acero, mediante técnicas estereotáxicas, en ambos núcleos geniculados y en la corteza occipital. La actividad PGO_r fue registrada en un polígrafo Grass modelo 78 B, con el papel corriendo a una velocidad de 5 mm/seg. La actividad PGO_r fue registrada por dos horas, antes de iniciar la administración de melatonina, hasta que se consideró estable y con pocas variaciones por minuto (de 20 a 25 PGO_r por minuto). Se administraron dosis de 0.5, 1, 10 y 50 mg/kg de peso, de melatonina y vehículo. El tiempo de la infusión fue de 3 minutos en 1 cc de solución de etanol al 1%, la cual se empleó como vehículo, sin melatonina, en igual volumen que las dosis con melatonina (1 cc). Después de la administración de melatonina, se contó la actividad PGO_r durante una hora. La evaluación de las PGO_r fue hecha visualmente por un investigador "ciego" al procedimiento farmacológico, utilizando siempre el mismo canal poligráfico. La prueba estadística empleada fue la t de Student pareada.

Resultados

En la tabla 1 se observan los valores de la actividad PGO_r después de la administración de melatonina o vehículo. Se observó que se obtiene significancia

TABLA 1
Cambios en la actividad PGO (número/minuto) en el gato, subsecuentes a la administración de la melatonina o vehículo

Dosis	No. de Gatos	Basal	Tratamiento	Probabilidad
Vehículo	6	15.76 ± 3.22	16.45 ± 3.19	NS
0.5	4	23.46 ± 2.16	22.01 ± 3.36	NS
1.0	4	22.49 ± 3.86	15.16 ± 5.24	p < 0.025
10.0	4	26.58 ± 3.62	14.47 ± 3.07	p < 0.05
50.0	4	25.59 ± 8.99	5.02 ± 3.33	p < 0.05

* Prueba t de Student para muestras pareadas Basal vs. Tratamiento

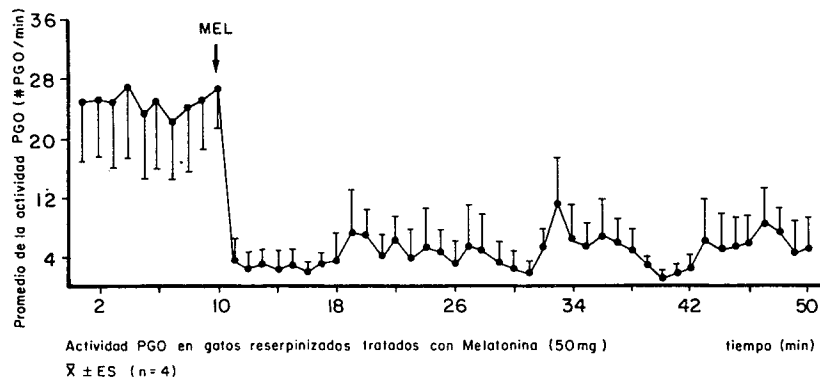


FIGURA 1.— Curso temporal (minuto a minuto) de los efectos de la administración de melatonina sobre la actividad PGO. Puede observarse una inhibición inmediata y continua de la frecuencia de PGO, después de la administración de 50 mg/kg de peso en 4 gatos reserpinizados. Este efecto se mantuvo estable. (* Significa $p < 0.05$ con respecto al basal).

estadística sólo a partir de la dosis de 1 mg, y que a medida que ésta se incrementa, es mayor la inhibición de la actividad PGO. En la tabla 2 se observan los tiempos en los cuales se presentó un restablecimiento de la actividad PGO. Sólo en el caso de la dosis máxima (50 mg/Kg), el efecto de la supresión de la actividad PGO duró más de una hora (Figura 1).

Simultáneamente con la administración de vehículo, se observó un aumento, aunque no significativo, de la actividad PGO (Figura 2). Con todas las dosis de melatonina, pero en especial con la de 50 mg/kg de peso, se observó una baja de la amplitud y la frecuencia de la actividad electrocorticográfica, que persistió

TABLA 2
Duración promedio del efecto de melatonina después de inyectada, sobre la actividad PGO

Dosis de Melatonina (mg/kg)	No. de gatos	Tiempo (minutos)
0.5	4	Efecto no detectable
1.0	4	48.5 $\pm$ 12.03
10.0	4	62.3 $\pm$ 18.02
50.0	4	126.2 $\pm$ 10.0

durante todo el tiempo en que se presentó el efecto sobre la actividad PGO.

Discusión

Los presentes datos demuestran que las dosis farmacológicas de melatonina administradas i.v., revierten la actividad PGO en el gato reserpinizado, con un patrón de tipo inhibitorio relacionado con la dosis. El efecto inhibitorio más notable se observó con la dosis más alta, y éste se apreció después de 30 min. aproximadamente para todas las dosis, con excepción de la dosis de 50 mg/kg, en donde el efecto se presentó al finalizar la infusión de melatonina.

Lo anterior sugiere que la melatonina puede ejercer este efecto inhibitorio a través de otras sustancias, lo cual explica la latencia de aproximadamente 30 min. a su efecto; sin embargo, el efecto casi inmediato con la dosis de 50 mg/kg pudiera explicarse a nivel de una interacción directa con algún receptor o algún mecanismo bioquímico transmembranal.

En el primero de los casos, el efecto de la melatonina sobre otros neurotransmisores se deduce de observaciones en donde la administración de melatonina modifica los niveles de monoaminas cerebrales (1,24). La administración aguda (1) y crónica (24) tienen un efecto sobre la serotonina y la dopamina en el mesencéfalo y el hipotálamo. También se tienen evidencias

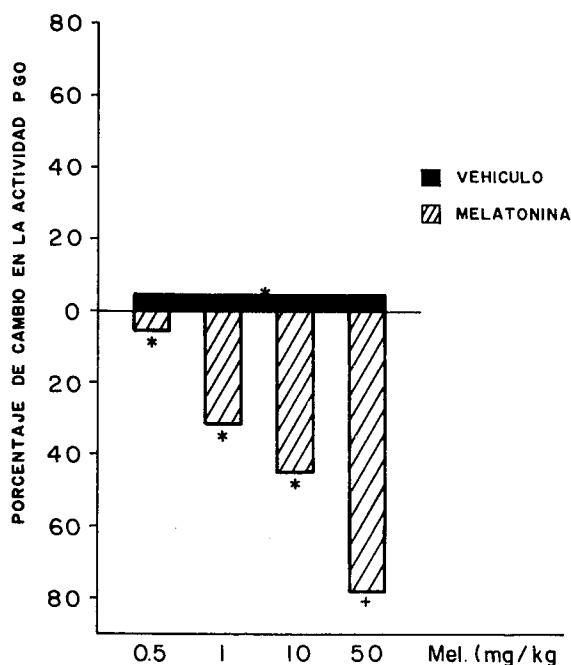


FIGURA 2.— Efecto de diferentes dosis de melatonina sobre la frecuencia PGO. Las barras abiertas muestran el efecto de melatonina y la barra oscura continua muestra el efecto del vehículo.

neurofisiológicas de que la melatonina, administrada sistémicamente, disminuye la frecuencia de descarga de la actividad multiunitaria de la formación reticular mesencefálica (9). En el presente trabajo, en donde la serotonina y otras monoaminas han sido depletadas de las vesículas sinápticas por acción de la reserpina, cabe suponer que el efecto de revertir la actividad PGO, pueda estar relacionado con una liberación de serotonina de las pozas citoplasmáticas.

En cuanto a que la melatonina tenga un efecto directo sobre los receptores membranales o sobre los mecanismos bioquímicos post-receptor, se ha reportado recientemente (19) la existencia de posibles receptores membranales a melatonina, en el hipotálamo. También existen evidencias de que la administración de melatonina modifica los niveles de calcio intracelular, posiblemente a partir de los depósitos de este catión a nivel mitocondrial (3), idea que se ve apoyada por el hecho de que existan sitios de unión a melatonina a nivel subcelular (3).

Un efecto de tipo subcelular resulta más evidente, con base en que la vida media de la melatonina es de 25 a 30 min; sin embargo, en el caso de la dosis de 50 mg/kg, este efecto duró más de 120 min. La utilización de dosis farmacológicas en este trabajo, está en relación a que no se está utilizando un modelo natural

de actividad PGO, por lo tanto, debido a que hay que remontar una depleción en los sistemas de monoaminas debido a la reserpina, se requirió de un nivel de dosis no fisiológica. Se requiere ahora un cambio de modelo al del gato en sueño fisiológico, con diversas manipulaciones del sistema generador de melatonina.

El efecto de esta indolamina sobre las PGO es congruente con algunas otras manipulaciones del sistema generador de melatonina sobre el SMOR. Como ha sido mencionado previamente, se ha observado que la extirpación quirúrgica de la glándula pineal aumenta la duración promedio del SMOR y avanza su ritmo de propensión (18,23), mientras que la administración de melatonina, como se menciona en el presente trabajo, revierte uno de los componentes del SMOR: la actividad PGO. Por lo anterior, se puede especular que la melatonina pueda tener un papel modulador sobre el SMOR, con un aumento del mismo y con cambios en sus aspectos de ritmicidad y propensión. Esto último hace sentido con el papel de sincronizador de ritmos endógenos que se ha atribuido a la melatonina. Se requieren más trabajos en esta área con el objeto de aclarar la relación del sistema generador de la melatonina sobre el sueño en general y particularmente sobre el SMOR.

BIBLIOGRAFIA

1. ANTON-TAY F, CHOU S, ANTON S, WURTMAN R: Brain serotonin concentration: elevation following intraperitoneal administration of melatonin. *Science*, 162:227-278, 1968.
2. ANTON-TAY F, DIAZ J L, FERNÁNDEZ-GUARDIOLA A: On the effect of melatonin upon human brain. Its possible therapeutic implication. *Life Sci*, 10:841-850, 1971.
3. ANTON-TAY F, FORRAY C, ORTEGA B C: Subneuronal fate of intracerebroventricular injected H-3 melatonin. *J Pineal R*, 5:125-133, 1988.
4. BARCHAS J, DA COSTA F, SPECTOR C: Acute pharmacology doses of melatonin. *Nature*, 214:919-920, 1967.
5. BENOIT O, ADRIEN J: PGO activity as a criterion of paradoxical sleep. A critical review. En: G C Laury y P Salzarulo (eds). En: *Experimental Study of Human Sleep: Methodological Problems*. Elsevier, Amsterdam, 23-36, 1975.
6. BRADLEY PB, DRAY A: Modification of responses of brain stem neurons to transmitter substances by anaesthetic agents. *Br J Pharmac*, 48:212-224, 1973.
7. BOOKS DC, GERSHON MD: An analysis of the effect of reserpine upon ponto-geniculo-occipital wave activity in the cat. *Neuropharmacology*, 11:499-510, 1972.
8. CRAMER H, RUDOLPH J, CONSRUCH V, KANDEL K: On the effects of melatonin on sleep and behavior in man. *Adv Biochem Psychopharmac*, 11:187-191, 1974.
9. NARANJO-RODRÍGUEZ B: Modificaciones de la actividad multiunitaria registrada en: hipotálamo lateral, amígdala, tálamo medial, núcleo caudado, formación reticular y corteza somatosensorial por la administración de melatonina en rata. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Área farmacología). Universidad Nacional Autónoma de México. 1986.
10. FERNANDEZ GUARDIOLA A, ANTON-TAY F: Modulation of subcortical inhibitory mechanisms of melatonin. *Adv Behav Biol*, 10:273-287, 1974.
11. HISHIKAWA Y, CRAMER H, KUHLO W: Natural an melatonin induced sleep in young chickens. A behavioral and electrographic study. *Exp Brain Res*, 7:84-94, 1969.
12. HOLMES SW, DUGDEN D: Effects of melatonin on sleep and neurochemistry in the rat. *Br J Pharmac*, 76:95-101, 1982.
13. JOUVET M, MICHEL, F: Correlation electromiographiques du sommeil chez le chat decortiqué at mesencephalique chronique. *CR Soc Biol*, 153:422-425, 1959.
14. JOUVET M: The role of monoamines and acetylcholine containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. En: *Reviews of Physiology. Neurophysiology and Neurochemistry of Sleep and Wakefulness*. Heidelberg, Nueva York, 167-307, 1972.
15. KLEIN DC, WELLER JL: Indole metabolism in the pineal gland: A circadian rhythm in N-Acetyltransferase. *Science* 169:1093-1095, 1970.
16. MARCZYNSKY TJ, YAMAGUCHI N, LING GM, GRODZINSKA L: Sleep induced by the administration of melatonin (5-methoxy N-acetyltryptamine) to the hypothalamus in unrestrained cats. *Experientia*, 10:435-437, 1964.
17. MENDELSON WB, GUILLIN JC, DAWSON SD, LEWY AJ, WYATT RJ: Effects of melatonin and propranolol on sleep of the rat. *Brain Res*, 201:240-244, 1980.
18. MOURET J, COINDET J, CHOUVET G: Effet de la pinealectomie sur les états et rythmes de sommeil du rat male. *Brain Res*, 81:97-105, 1974.
19. MOSHE L, ZISAPEL N: Characterization of central melatonin receptors using 125-I-Melatonin. *FEBS lett*, 197:9-12, 1986.
20. REPPERT SM, KLEIN DC: Mammalian pineal gland: Basic and clinical aspects. M Motta (ed). En: *Basic and Clinical Aspects of the Brain*. Raven Press, Nueva York, 327-371, 1980.
21. ROMIJIN HL: The Pineal: A tranquilizing organ? *Life Sci*, 23:2257-2274, 1978.
22. RUZSAS C, DE GAETANI C, CRISCUOLO M, MESS B, TRENTINI P: Possible role of the midbrain serotonergic raphe nuclei in the regulation of ovulation exerted by melatonin in the rat. *Neuroendocrinol Lett*, 3: 331-339, 1981.
23. SALIN-PASCUAL RJ, MARTIN JV, TAMARKIN L, MEN-

- DELSON W: Efectos de la pinealectomía (Px) y la administración de melatonina (ME) sobre el sueño de la rata macho. En: Libro de resúmenes XXVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. (México). Resumen 264, 1985.
24. SALÍN-PASCUAL RJ, ANTON-TAY F, RION R, ASAI M, DÍAZ MARISCAL C: Diferencias en los niveles cerebrales de monoaminas en ratas pretratadas crónicamente con melatonina. En: Libro de resúmenes XXV Reunión Anual de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, pag. 14, 1985.
25. TAMARKIN L, REPPERT SM, KLEIN DC: Regulation of pineal melatonin in the syrian hamster. *Endocrinology*, 104: 385-389, 1979.
26. WURTMAN RJ, LIEBERMAN HR: Melatonin secretion as a mediator of circadian variations in sleepiness. *J Pineal Res*, 2:301-303, 1985.