
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ANNA ROSINA, MARCO MARGNELLI, MAURO MANCIA

Sonno «desincronizzato» indotto dall'iniezione selettiva di barbiturico nel circolo vertebrale

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 38 (1965), n.1, p. 113–118.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_38_1_113_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

SIMAI & UMI

<http://www.bdim.eu/>

Fisiologia. — *Sonno «desincronizzato» indotto dall'iniezione selettiva di barbiturico nel circolo vertebrale* (*). Nota di ANNA ROSINA (**), MARCO MARGNELLI (***) e MAURO MANCIA, presentata (****) dal Socio R. MARGARIA.

INTRODUZIONE.

Nel preparato encefalo isolato, Magni, Moruzzi, Rossi e Zanchetti [1] hanno dimostrato che l'iniezione di piccole dosi di Thiopental Sodium nel circolo vertebrale, previa chiusura dell'arteria basilare a livello medio pontino, è capace di produrre una desincronizzazione elettroencefalografica generalizzata. Questa osservazione è stata considerata una delle prove in favore dell'ipotesi che strutture situate nella parte caudale del tronco encefalico sono attivamente responsabili della sincronizzazione EEG che si osserva durante le fasi di sonno lento (vedi Batini e coll. [2]; Cordeau e Mancina [3], Moruzzi [4]). Recentemente Berlucchi, Maffei, Moruzzi e Strata [5] hanno osservato in tale preparato che il raffreddamento del pavimento del IV ventricolo di fronte all'obex produce un risveglio generalizzato come conseguenza dell'inattivazione delle influenze toniche ascendenti a partenza dalle strutture sincronizzanti del midollo allungato.

Ricerche eseguite con varie tecniche [6, 7] hanno dimostrato che nel tronco dell'encefalo e particolarmente nel ponte esistono strutture che intervengano nello scatenamento e nel mantenimento della manifestazione EEG, EMG ed oculografiche del sonno profondo o desincronizzato. Scopo della presente ricerca è stato quello di studiare nell'animale cronico l'effetto dell'introduzione nel circolo vertebrale di piccole dosi di barbiturico ad azione rapida, previa chiusura della basilare a differenti livelli nel suo decorso lungo il tronco cerebrale. È stato così possibile studiare nell'animale l'effetto dell'inattivazione momentanea delle strutture nervose situate caudalmente al punto di chiusura della basilare. Legando la basilare da 4-5 mm fino a 10-12 mm al davanti delle arterie cerebellari posteriori inferiori che notoriamente si dividono proprio in corrispondenza della zona di passaggio fra ponte e bulbo è stato possibile inattivare selettivamente strutture bulbari e caudopontine oppure inattivare insieme a queste anche strutture situate nella parte più rostrale del ponte.

(*) Dall'Istituto di Fisiologia Umana dell'Università di Milano ed Impresa di Elettrofisiologia del CNR, Milano.

(**) Ricercatrice del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

(***) Studente interno.

(****) Nella seduta del 9 gennaio 1965.

METODO.

Gli esperimenti sono stati eseguiti in gatti. In anestesia nembotalica profonda veniva praticata una breccia ossea attraverso l'epifaringe e previa apertura della dura, l'arteria basilare veniva legata con filo di seta sottile, a differenti livelli del suo decorso lungo il tronco in senso craniale a partire da 4 mm dal punto in cui si staccano le due arterie cerebellari posteriori inferiori. La breccia ossea veniva quindi richiusa con una piccola placca d'argento, fissata all'osso per mezzo di cemento da dentista. In questa seduta operatoria venivano in genere impiantati cronicamente gli elettrodi per la registrazione EEG (dalla regione fronto-parietale di ciascun emisfero), EMG (dai muscoli nucali e da un estensore degli arti posteriori) e dei movimenti oculari (per mezzo di due viti infisse nel tetto dell'orbita, da ciascun lato, previa apertura dei seni frontali). Gli animali così operati venivano lasciati recuperare, e dopo alcuni giorni sottoposti ad un nuovo intervento: in anestesia nembotalica la parete toracica veniva incisa sul lato sinistro e la prima costa sezionata, rispettando la pleura parietale, in modo da visualizzare l'arteria succlavia ed i suoi rami principali. Le arterie costocervicale, tireocervicale e mammaria interna erano chiuse ed una cannula di politene inserita nell'arteria ascellare e spinta nella succlavia fino ad un millimetro circa dal punto di emergenza dell'arteria vertebrale (vedi [8]).

Il segmento distale dell'arto sinistro veniva in genere amputato durante l'intervento.

Gli esperimenti erano iniziati 1-3 giorni dopo l'ultimo intervento, quando le condizioni degli animali apparivano soddisfacenti. Gli animali venivano posti in una gabbia isolata acusticamente e lasciati in illuminazione uniforme. Il comportamento veniva osservato attraverso un oblò della gabbia.

L'EEG, l'EMG e l'oculogramma, venivano registrati su un comune elettroencefalografo. La cannula veniva riempita di una soluzione contenente Pentothal Sodium nella concentrazione di 2 mg per cc. Le iniezioni di barbiturico nel circolo vertebrale venivano eseguite al tempo medio di 5-8 secondi ed alla dose di 0,2-0,8 mg, durante le fasi di veglia, sonno lento e sonno rapido.

In alcuni animali la pressione arteriosa e la frequenza cardiaca venivano controllate con un apparecchio Sanborn durante le fasi di sonno e veglia spontanee e durante le varie iniezioni di barbiturico nel sistema vertebro-basilare. Alla fine dell'esperimento veniva iniettato nel circolo vertebrale una soluzione di bleu di metilene che colorava il tessuto irrorato. In alcuni animali, veniva iniettato nel circolo vertebrale alla fine delle osservazioni una resina autopolimerizzante al calore (Neoprene) così da avere un plastico dell'albero arterioso del circolo in cui veniva iniettato il barbiturico. Il cervello era quindi tolto con cura dalla scatola cranica e misurata la distanza tra il punto di chiusura della basilare e il punto in cui le due cerebellari posteriori inferiori si staccano. Esperimenti acuti di controllo sono stati compiuti su gatti decere-

brati la cui basilare era stata legata a livello mediopontino alcuni giorni prima.

In questi animali la cannula veniva posta *in situ* così da iniettare il liquido nel circolo vertebrale. La pressione arteriosa terminale e la frequenza cardiaca erano registrate su di un apparecchio Sanborn.

RISULTATI.

1. *Effetto dell'iniezione di barbiturico nel circolo vertebrale previa legatura della basilare a livello caudo-pontino.*

a) L'iniezione di 0,4 mg di Pentothal Sodium nel circolo vertebrale, previa legatura della basilare a 4-5 mm dalle arterie cerebellari posteriori inferiori, eseguita durante le condizioni di *veglia intensa* (con desincronizzazione EEG, attività tonica dei muscoli mucali e movimenti oculari) non produceva generalmente modificazioni del quadro EEG, né dell'attività EMGrafica ed oculografica. Occasionalmente il tono dei muscoli mucali si riduceva modestamente. Dal punto di vista comportamentale l'animale rimaneva vigile e non mostrava variazioni sensibili del suo comportamento.

b) Quando la stessa iniezione di barbiturico veniva eseguita in condizioni di *sonno lento*, (con sincronizzazione EEG, lieve riduzione dell'EMG nucale ed assenza di movimenti oculari) si poteva assistere all'induzione di un tipico quadro di sonno rapido con desincronizzazione EEG, caduta di tono dell'EMG dei muscoli nucali e di un estensore dell'arto inferiore e movimenti oculari rapidi. Talvolta l'iniezione lasciava invariato il quadro elettrografico e comportamentale di sonno lento.

L'induzione del sonno desincronizzato era più facilmente ottenuta quando l'iniezione era eseguita su uno sfondo di intensa sincronizzazione EEG e riduzione dell'EMG nucale. L'episodio di sonno rapido indotto farmacologicamente compariva con latenza di 4-6 secondi dall'inizio dell'iniezione, era comportamentalmente uguale ed aveva una durata paragonabile a quella di un episodio spontaneo. Uno stimolo naturale poteva facilmente risvegliare l'animale.

c) La stessa iniezione di barbiturico (0,4 mg) eseguita nel circolo vertebrale durante un episodio di *sonno desincronizzato* spontaneo generalmente ne lasciava immutato il quadro elettrografico e comportamentale.

2. *Effetto dell'iniezione di barbiturico nel circolo vertebrale previa legatura della basilare a livello medio-pontino.*

a) L'iniezione di 0,6 mg di Pentothal Sodium nel circolo vertebrale previa chiusura della basilare a 8 mm circa dalle cerebellari posteriori inferiori eseguita durante un episodio di *veglia* ne lasciava in genere invariato il quadro elettrografico e comportamentale.

b) In *sonno lento* la stessa iniezione di barbiturico provocava invariabilmente e con latenza di 4-5 secondi dall'inizio dell'iniezione un quadro di sonno rapido con desincronizzazione EEG, appiattimento del tracciato EMG dei muscoli nucali e di un estensore dell'arto posteriore e movimenti oculari.

Il comportamento dell'animale era quello d'un episodio di sonno profondo spontaneo. Uno stimolo naturale era sempre capace di risvegliare l'animale.

c) In *sonno desincronizzato* spontaneo la stessa iniezione produceva il risveglio. L'EEG rimaneva desincronizzato mentre l'attività tonica dei muscoli antigravitari aumentava. I movimenti oculari erano quelli tipici della veglia.

3. *Effetto dell'iniezione di barbiturico nel circolo vertebrale previa legatura della basilare a livello rostro-pontino.*

a) L'iniezione di 0,6 mg di Pentothal Sodium nel circolo vertebrale previa chiusura della basilare a circa 12 mm dalle arterie cerebellari posteriori inferiori, non modificava le condizioni di *veglia*.

b) Durante un episodio di *sonno sincronizzato* la stessa iniezione provocava generalmente un risveglio EEG, EMG, oculografico e comportamentale. L'effetto compariva con una latenza da 5 a 10 secondi dall'inizio dell'iniezione. Occasionalmente la stessa dose poteva lasciare invariato il quadro elettrografico e comportamentale di sonno lento.

In queste condizioni sperimentali, l'iniezione di Pentothal Sodium nel circolo vertebrale, non ha mai indotto un quadro di sonno desincronizzato.

c) Quando eseguita durante un episodio di *sonno rapido* spontaneo l'iniezione di barbiturico produceva normalmente una reazione di risveglio.

4. *Esperimenti di controllo.*

L'iniezione di soluzione fisiologica nel circolo vertebrale nelle stesse condizioni sperimentali in cui veniva studiato l'effetto del Pentothal, non ha mai prodotto variazioni del quadro elettrografico, comportamentale, pressorio e di frequenza cardiaca dell'animale da esperimento.

Nell'animale normale l'iniezione di barbiturico alle dosi capaci di produrre gli effetti soprariferiti aumentava lievemente la frequenza cardiaca e causava una caduta della pressione arteriosa sistemica di 10-20 mm Hg. In alcuni esperimenti per dosi di 0,1-0,2 mg di Pentothal, la pressione arteriosa poteva rimanere invariata mentre la frequenza cardiaca mostrava sempre un leggero aumento.

Quando eseguita nell'animale decerebrato con chiusura della basilare a livello mediopontino, l'iniezione di barbiturico anche a dosi (0,1-0,2 mg) inferiori a quelle usate nell'esperimento cronico causava invariabilmente una caduta della pressione arteriosa sistemica di 10-20 mm Hg che ritornava ai valori di controllo in circa 1-2 minuti. La frequenza cardiaca era generalmente aumentata.

DISCUSSIONE.

Gli effetti indotti dall'iniezione di Pentothal nel circolo vertebrale sono da attribuirsi alla inattivazione temporanea e reversibile di strutture nervose situate nel territorio di irrorazione del sistema vertebro-basilare, fino al livello di legatura dell'arteria basilare. Che si tratti di inattivazione e non di irritazione è dimostrato dagli esperimenti di controllo dove l'iniezione di barbiturico provocava invariabilmente caduta della pressione arteriosa sistemica ed aumento della frequenza cardiaca.

Gli effetti elettrografici e comportamentali osservati sono strettamente correlati con il livello di chiusura (*caudo, medio e rostro-pontino*) e con l'attività EEG ed EMG di fondo su cui viene eseguita l'iniezione.

In nessun caso l'iniezione di barbiturico nel circolo vertebro-basilare modifica lo stato di veglia, indicando che le strutture deattivate dal barbiturico non sono indispensabili per il mantenimento delle condizioni elettrografiche e comportamentali della veglia.

Contrariamente alle osservazioni riportate da altri Autori in gatti acuti «*encéphale isolé*» [1] l'introduzione di barbiturico nel circolo vertebro-basilare del preparato medio-pontino, nella fase di sonno lento ha invariabilmente provocato il passaggio a sonno desincronizzato.

Il fatto che la deattivazione limitata alle sole strutture sincronizzanti produca il passaggio da sonno lento a sonno rapido suggerisce l'ipotesi che strutture sincronizzanti del tronco esercitino un'azione tonica di natura inibitoria sui neuroni più rostrali responsabili della comparsa e del mantenimento della fase desincronizzata del sonno.

L'osservazione che negli animali con legatura basilare caudopontina l'iniezione di Pentothal non sia capace di interrompere un episodio di sonno rapido spontaneo sembra indicare che il limite inferiore delle strutture responsabili della comparsa del sonno desincronizzato è a livello caudopontino. L'interruzione del sonno profondo da parte dell'iniezione eseguita nel preparato con legatura rostropontina indica che limite superiore delle strutture nervose responsabili della fase di sonno rapido è a livello rostropontino. Sono quindi confermate quelle osservazioni [6, 7] che dimostrano l'esistenza nel ponte di strutture indispensabili allo scatenamento ed al mantenimento del sonno desincronizzato. Il fatto che l'introduzione di barbiturico nell'animale con legatura basilare mediopontina produca invariabilmente il passaggio da sonno sincronizzato a sonno desincronizzato dimostra che i neuroni sincronizzanti deattivati dal barbiturico si spingono fino al livello mediopontino. D'altra parte, la possibilità che il barbiturico ha di risvegliare dal sonno rapido spontaneo un animale con legatura basilare mediopontina indica che la parte più rostrale delle strutture responsabili del sonno sincrono e la più caudale di quelle responsabili del sonno desincronizzato si sovrappongono topograficamente al livello medio del ponte.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] F. MAGNI, G. MORUZZI, G. F. ROSSI and A. ZANCHETTI, « Arch. Ital. Biol. », 97, 33-46 (1959).
- [2] C. BATINI, G. MORUZZI, M. PALESTINI, G. F. ROSSI and A. ZANCHETTI, « Arch. Ital. Biol. », 97, 1-12 (1959).
- [3] J. P. CORDEAU and M. MANCIA, « EEG clin. Neurophysiol. », 311, 551-564 (1959).
- [4] G. MORUZZI, « Harvey Lectures », ser. 58, 233-297 (1963).
- [5] G. BERLUCCHI, L. MAFFEI, G. MORUZZI and P. G. STRATA, « Arch. Ital. Biol. », 102, 372-392 (1964).
- [6] M. JOUVET, « Arch. Ital. Biol. », 100, 125-206 (1962).
- [7] G. F. ROSSI, K. MINOBE and O. CANDIA, « Arch. Ital. Biol. », 101, 470-492 (1963).
- [8] P. MANTEGAZZINI, K. POECK and G. SANTIBAÑEZ, « Arch. Ital. Biol. », 97, 222-242 (1959).