

ATIVIDADE UNITÁRIA DO NÚCLEO COCLEAR DE COBAIAS

DURANTE AS FASES DO SONO

UFRGS  
Depto. de Biologia  
BIBLIOTECA

Maria Flávia Marques Ribeiro

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO:

Apresentada ao Curso de Pós-Graduação  
em Ciências Biológicas: Fisiologia da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, RS

1990

A parte experimental deste trabalho foi realizada no Laboratório de Neurofisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade da República, Montevideo, Uruguai, sob a orientação do Prof. Dr. Ricardo Velutti. Essa instituição mantém convênio de cooperação na pesquisa científica e no ensino com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

"A colheita é comum, mas o capinar é sozinho"

Guimarães Rosa.

À minha família.

03  
Departamento de Fisiologia e  
Farmacologia e Biofísica  
BIBLIOTECA

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho foi possível graças ao apoio e colaboração de muitas pessoas e instituições, às quais desejo expressar especial agradecimento:

À CAPES, Facultad de Medicina e Planeamento Universitário de la Univesidad de la Republica, Montevideo, Uruguai, pelo apoio financeiro;

Ao Prof. Dr. Ricardo Velluti, pela atenção com que me recebeu no laboratório de Neurofisiologia da Faculdade de Medicina, Montevideo, pela orientação segura na realização do trabalho experimental, e sobretudo, pela amizade e grande contribuição para a minha formação científica;

A Jose Luiz Peña e Marisa Pedemonte, pelo convívio fraterno e importante colaboração técnica;

Aos funcionários e professores do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina, Montevideo, pela cordialidade com que me acolheram;

À Prof. Dra. Poli Mara Spritzer, orientadora e amiga, pelo estímulo constante e valiosas críticas e sugestões;

À Prof. Dra. Maria Marques, pelo exemplo de conduta acadêmica, por seus conselhos e comentários ao longo deste trabalho, e principalmente, pelo apoio e carinho incondicionais;

Aos professores, colegas e funcionários do Departamento de Fisiologia, UFRGS, pela amizade e cooperação;

Aos meus amigos, tão presentes e insubstituíveis.

## ABREVIATURAS

AO.....	Audio oscilador
AUDIO AMP.....	Audio amplificador
ECoG.....	Eletrocorticograma
EMG.....	Eletromiograma
ESTIM.....	Estimulador
FC.....	Frequência característica
FOC.....	Feixe olivococlear
HPE.....	Histograma pós-estímulo
HIP.....	Hipocampo
MC.....	Potenciais cocleares microfônicos
MOD.....	Modulador de tons "pip"
n.....	Número de espículas
NC.....	Núcleo coclear
NCAV.....	Núcleo coclear anteroventral
NCD.....	Núcleo coclear dorsal
NCPV.....	Núcleo coclear posteroventral
NPS.....	Nível de pressão sonora
OS.....	Oliva superior
OSC.....	Osciloscópio
pAC.....	Potencial composto do nervo auditivo
PRÉ-AMP.....	Pré-amplificador
PRI.....	"Primary-like"
PRI-N.....	"Notch-primary like"

SL..... Sono lento  
SNC..... Sistema nervoso central  
SP..... Sono paradoxal  
V..... Vigília  
Va..... Vigília ativa  
Vt..... Vigília tranqüila

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Feixe olivococlear.....	3
1.2 Anatomia do núcleo coclear.....	6
1.3 Fisiologia do núcleo coclear.....	8
1.3.1 Forma do potencial de ação.....	8
1.3.2 Organização tonotópica.....	8
1.3.3 Padrões de resposta.....	8
1.3.4 Padrões de excitação e inibição.....	10
1.3.5 Análise de estímulos complexos.....	11
1.4 Vias centrífugas para o núcleo coclear.....	12
1.5 Fisiologia das vias centrífugas para o núcleo coclear..	13
1.6 Características do sono na cobaia.....	14
1.7 Atividade do sistema auditivo durante o ciclo S-V.....	15
2. OBJETIVOS.....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Animais.....	21
3.2 Procedimento cirúrgico.....	21
3.3 Estimulação e registro.....	23
3.4 Processamento e análise estatística.....	25
4. RESULTADOS.....	30
5. DISCUSSÃO.....	42
6. CONCLUSÃO.....	50
7. RESUMO.....	52
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

## 1. INTRODUÇÃO

Embora não se torne totalmente consciente, a todo momento estamos recebendo e processando informações de todos os sistemas sensoriais. O sistema nervoso central (SNC) seleciona as informações mais importantes em determinado momento, dependendo de muitas variáveis: sistema sensorial envolvido, qualidades do estímulo e importância deste para a sobrevivência, relação do estímulo com os dados armazenados na memória do indivíduo, estado do receptor, das vias e do SNC, assim como o estado atencional e também de vigília-sono. Como esta seleção é feita permanece por ser esclarecido, embora o abundante número de dados obtidos nos últimos anos leve a aceitar a possível influência de sistemas centrífugos capazes de controlar as vias aferentes, selecionando, aperfeiçoando e hierarquizando o conteúdo das informações que estas enviam aos centros superiores (Livingston, 1959).

Os sistemas eferentes que controlam a chegada da informação sensorial estão representados por vias que habitualmente correm em sentido oposto, paralelas aos trajetos sensoriais, projetando-se em diferentes estações das vias aferentes. A idéia deste mecanismo de controle do SNC não é nova. Em 1939, Toennies sugeriu a existência de um sistema centrífugo com fibras para as raízes medulares dorsais que, quando ativas, eram capazes de condicionar os terminais sensoriais. Estudos realizados em fotorreceptores de *Limulus* (Hartline, 1953), no sistema olfatório de gatos (Kerr, 1955) e retina de gatos (Granit, 1955), sugerem que as mensagens sensoriais sofrem substanciais modificações nos núcleos

centrais. Em alguns casos as ações destes sistemas eferentes são inibitórias (Livingston, 1959; Pretch e Llinás, 1969), e em outros exercem efeitos facilitatórios (Granit, 1955; Bushnell e col., 1981; Crispino, 1983).

No sistema auditivo, em particular, a via eferente olivococlear parece claramente representar o elo final de uma cadeia de neurônios que passam do córtex para a cóclea. As vias centrífugas auditivas são conhecidas desde o final do século XIX (Held, 1893), mas foi com a descrição do feixe olivococlear (FOC) por Rasmussen, em 1946, que surgiu maior interesse nessas vias. O trabalho pioneiro de Hernandez Peón e col., 1956, sugerindo que as vias centrífugas modificam o influxo sensorial durante processos como a atenção, desencadeou uma série de estudos na tentativa de esclarecer as ações do FOC e sua relação com os estados do sistema nervoso central.

### 1.1 FEIXE OLIVOCOCLEAR

A cóclea recebe inervação centrífuga do complexo olivar superior. Esta inervação é bilateral, sendo que as fibras contralaterais se estendem sobre a superfície dorsal do tronco encefálico imediatamente por baixo do assoalho do quarto ventrículo (Rasmussen, 1946). Estas fibras então se unem às fibras ipsilaterais e algumas ramificam-se entrando no núcleo coclear (NC). As outras partem do tronco encefálico e via anastomose vestibulo-coclear unem-se ao oitavo par craniano e

alcançam a cóclea. O FOC pode ser estimulado eletricamente no assoalho do quarto ventrículo. Galambos (1956) demonstrou pela primeira vez, que essa estimulação reduz a amplitude do potencial de ação composto do nervo auditivo (pAC). Posteriormente, Fex (1959) observou que essa diminuição do pAC foi acompanhada por um aumento dos potenciais cocleares microfônicos (MC). Este conjunto de respostas foi chamado efeito Galambos-Fex. Fex (1962) demonstrou as ações inibitórias do FOC. A estimulação do FOC resulta também em uma redução dos potenciais evocados em níveis superiores da via auditiva (Desmedt, 1962). A estimulação de uma região particular do lemnisco lateral reduz a resposta a estalidos no núcleo coclear contralateral (Desmedt, 1960). A estimulação do FOC não cruzado reduz o pAC mas não tem efeito nos MC (Sohmer, 1966). A estimulação do FOC cruzado não afeta a atividade espontânea das fibras do nervo auditivo, enquanto a estimulação do FOC não cruzado sim (Comis, 1970).

Hernandez Peón e Scherrer (1955), em um trabalho muito discutido posteriormente, sugeriram que a distração visual, olfatória e nociceptiva pode abolir temporariamente a resposta do NC a um estímulo sonoro, e Galambos, Sheatz e Vernier (1956) encontraram que a habituação a um estímulo sonoro pode, da mesma maneira, resultar em desaparecimento da atividade no NC. No entanto, a resposta pode ser restituída se for introduzida uma situação nova ou um estímulo doloroso (Altman, 1960). A desabituação é capaz de produzir aumentos paralelos no pAC e MC (Buño e col., 1966; Pedemonte e Velluti,

1984). Foi sugerido que esses aumentos são devidos ao SNC atuando através do sistema eferente. Posteriormente, Buño e García-Austt (1970) encontraram uma queda nos MC associada a um aumento do pAC após transecção do FOC. Foi sugerido um duplo modo de ação do sistema eferente, apoiado por dados anatômicos (Warr, 1978). É provável que em condições fisiológicas como a habituação e o sono, o SNC opere através do sistema eferente de uma maneira dependente do estado. Foi proposto um mecanismo de ação tipo "gating", o que não exclui a possibilidade de que o sistema eferente tenha outras funções, assim como a redistribuição da informação aferente (Whitfield, 1984), aumento da relação sinal-ruído (Winslow e Sachs, 1987), proteção da cóclea contra ruídos excessivos (Cody e Johnstone, 1982; Rajan e Johnstone, 1983), controle do estado mecânico da cóclea (Johnstone e col., 1986), ou discriminação de frequências (Dewson, 1968; Capps e Ades, 1968).

As fibras do FOC são responsivas ao som. É provável que essas fibras sejam afetadas pela atividade neural mais central, já que o FOC pode ser ativado pela estimulação elétrica de regiões mais altas do SNC. Fex (1962) observou que fibras do FOC disparam espontaneamente com um padrão particularmente regular. Desmedt (1975) demonstrou que o FOC pode também ser ativado por estimulação elétrica do córtex insulo-temporal. O FOC normalmente tem efeito inibitório tônico no influxo auditivo (Borg, 1971).

## 1.2 ANATOMIA DO NÚCLEO COCLEAR

Em vista da diversidade de propriedades dos neurônios do NC, os dados anatômicos trazem grande ajuda para a análise das funções do núcleo. Todas as fibras aferentes provindas da cóclea terminam centralmente dentro dos núcleos cocleares, localizados na porção lateral do tronco encefálico ao nível da entrada do oitavo par craniano, onde recobrem a porção dorsal e posterior do corpo restiforme (Osen, 1970). Cada fibra do nervo auditivo ramifica-se ao entrar no núcleo, sendo que um ramo dirige-se rostralmente e o outro caudalmente. O ramo rostral inerva a divisão anteroventral do NC (NCAV), enquanto o ramo caudal inerva a divisão posteroventral (NCPV) e o núcleo coclear dorsal (NCD).

As três divisões do NC mostram propriedades muito diferentes e é muito provável que exerçam funções distintas. Em geral, os neurônios do NCAV possuem propriedades similares às das fibras do nervo auditivo e devem funcionar como um relé sináptico para a informação aferente. Células do NCD, por outro lado, têm propriedades muito mais complexas e podem contribuir para a análise de sinais complexos.

O estudo detalhado das células do NC levou à idéia de que características funcionais diferentes estão associadas a diferentes tipos de células. O mapeamento dos tipos celulares foi realizado por Osen (1969) e por Brawer e col. (1974), ambos estudos realizados em gatos. Certas áreas podem ser definidas como predominantemente ocupadas por certas células.

No pólo anterior do NCAV há uma área de grandes células esféricas. Fibras do nervo auditivo fazem contato sináptico com estas células através de grandes terminais sinápticos chamados bulbos terminais de Held e também por terminais menores. Há uma área mais caudal com células esféricas menores e células globulares. A chamada área tentaculada está localizada no NCPV e é ocupada por células tentaculadas predominantemente. As outras áreas do NCPV contêm uma variedade de células. O NCD recobre o NCPV dorsal e caudalmente, e contém uma camada de células com processos duplos, um orientado em direção à superfície do núcleo e um em direção ao centro. Estas células são chamadas fusiformes ou piramidais em diferentes terminologias. Há também células gigantes profundas no NCD. Muitas outras células menores são distribuídas em todo o NC, algumas das quais são provavelmente interneurônios. Os contatos sinápticos do NCPV e do NCD são usualmente feitos por muitos botões axodendríticos pequenos. Estudos usando o método de Golgi mostram maior complexidade do que a descrita por Osen. Lorente de Nó (1933, 1981) identificou 13 áreas contendo 50 tipos diferentes de células e Brawer (1974) dividiu o NC em 18 regiões, contendo 20 tipos diferentes de células.

O NC projeta centralmente através de três estrias principais: o corpo trapezóide, a estria acústica intermediária ou estria de Held, e a estria acústica dorsal. O NCAV projeta através do corpo trapezóide, o NCPV projeta através da parte posterior do corpo trapezóide e através da

estria acústica intermediária. As projeções do NCAV e do NCPV coincidem somente em um núcleo do complexo periolivar. O NCAV mas não o NCPV projeta para o núcleo principal do complexo olivar superior. O NCD projeta via estria acústica dorsal para o colículo inferior e para os núcleos do lemnisco lateral e, uma pequena projeção para os núcleos periolivares.

### 1.3 FISILOGIA DO NÚCLEO COCLEAR

#### 1.3.1. Forma do potencial de ação

Pfeiffer (1966a) observou que o potencial de ação extracelular no NCAV tem uma forma complexa trifásica, sendo uma deflexão inicial positiva seguida 0,4-0,6 ms depois por uma deflexão negativa-positiva. A estimulação elétrica da cóclea e a estimulação antidrômica dos neurônios do NCAV revelam que a deflexão positiva inicial é pré-sináptica e a última deflexão é pós sináptica. Formas de onda complexas não foram relatadas em outras subdivisões do NC em gatos.

#### 1.3.2. Organização tonotópica

Rose e col., (1959,1960) demonstraram que todas as três maiores divisões do NC são tonotopicamente organizadas, com as altas frequências sendo registradas dorsalmente e as frequências baixas ventralmente.

#### 1.3.3. Padrões de resposta

Os neurônios do NC podem responder a estímulos sonoros ou não. Os que não respondem são chamados espontâneos.

Pfeiffer (1966b) classificou as células do NC de acordo com as respostas a tons curtos liberados logo acima do limiar à frequência característica (FC) do neurônio. Essas respostas são visualizadas através dos histogramas pós-estímulo.

"Primary-like": Esta classe de neurônios responde a tons e estalidos de maneira semelhante às fibras do nervo auditivo, com um pico no início e declinando gradualmente (PRI). Estas unidades foram subdivididas em PRI e PRI-N, tendo a última uma pequena pausa (menor de 5 ms). A grande maioria das unidades PRI e PRI-N são encontradas no NCAV.

"Chopper": Caracterizadas por uma regularidade de disparo que produz uma ondulação no histograma pós-estímulo, mostrando uma série de picos que vão declinando em direção ao final. Há forte representação dessas unidades no NCPV e camadas profundas do NCD.

"Onset": Apresentam um pico inicial e uma pausa ou pouca atividade mantida. São encontradas em todo o NC, mas particularmente na área tentaculada (NCPV), que produz somente respostas deste tipo.

"Pauser" e "Buildup": Caracterizadas por um pico inicial seguido de uma pausa (maior de 5 ms) e logo um aumento gradual de atividade. Respostas "buildup" caracterizam-se por não apresentarem o pico inicial, mas sua atividade aumenta lentamente no tempo (Rose e col., 1959). Estas respostas são encontradas particularmente na camada fusiforme do NCD.

Um microelétrodo colocado no NC, em gatos anestesiados,

detecta descarga de espículas mesmo na ausência de estimulação acústica controlada pelo experimentador (Koerber, Pfeiffer, Warr e Kiang, 1966); são as chamadas "descargas espontâneas". Embora não se possa saber a origem exata da atividade espontânea do NC, é sabido que a atividade espontânea do nervo auditivo desaparece após a destruição da cóclea (Kiang e col., 1965). A atividade espontânea do NC após a destruição da cóclea confirma achados anatômicos, já que no NCAV a atividade espontânea desaparece e no NCD não é alterada. Há evidências anatômicas de que as células do NCD podem ser inervadas por fibras cujos corpos celulares estão dentro do próprio NCD, do NCAV e de níveis mais altos do sistema auditivo. Embora o NCAV também receba fibras de outras origens que não a cóclea, a atividade espontânea nesta divisão do núcleo é claramente dependente da atividade do nervo auditivo, enquanto a origem da atividade espontânea no NCD parece ser dependente de fatores endógenos do NC e/ou de partes mais centrais do sistema nervoso (Koerber e col., 1966).

#### 1.3.4. Padrões de excitação e inibição

Evans e Nelson (1973a) realizaram extensa investigação das propriedades excitatórias-inibitórias das células do NC em gatos. Em um extremo foram encontradas células sem resposta inibitória com propriedades semelhantes às fibras do nervo auditivo, que podem ser associadas às PRI de Pfeiffer. Muitos neurônios do NCD são inteiramente inibidos por tons, embora existam grandes variações nos registros do NCD (Goldberg e Brownell, 1973). Há um grupo de células intermediário, com uma

curva excitatória rodeada por bandas inibitórias.

### 1.3.5. Análise de estímulos complexos

Estímulos que alcançam a banda inibitória dos neurônios reduzem a frequência de disparos destes neurônios. Se, no entanto, a banda do ruído é centrada na FC desse neurônio, a frequência de disparos primeiro aumenta e então diminui. Este efeito, que é análogo ao que ocorre no nervo auditivo como resultado de supressão, foi descrito no NC (Greenwood e Goldberg, 1970). Quando um tom está junto a um ruído, espera-se que as bandas inibitórias suprimam as partes mais fracas do estímulo para enfatizar as mais fortes. Na verdade, a frequência de disparos depende mais do contraste do padrão de estímulo do que da intensidade; isto foi confirmado em células do NCD (Evans e Palmer, 1975). Em 1977, Evans demonstrou que a resposta a um padrão espectralmente complexo de contraste foi constante apesar de amplas variações na intensidade do estímulo. Ruídos com amplas bandas foram capazes de estimular mais do que qualquer tom (Young e Brownell, 1976). Em alguns casos, ambos tom e ruído foram excitatórios próximos do limiar, mas a maiores intensidades os tons tornam-se inibitórios e os ruídos excitatórios. Voigt e Young (1980) demonstraram que essas unidades foram inibidas por células de organização mais simples, com um centro excitatório e bandas inibitórias. Em certas células do NC tons FM (frequência modulada) podem produzir respostas mais fortes do que tons estáveis (Mooler, 1978). Glatcke (1969) encontrou duas classes de unidades sensíveis à modulação da amplitude do

estímulo. Greenwood e Maruyama (1965) observaram que unidades com resposta monotônica responderam da mesma maneira que as fibras do nervo auditivo, nas quais um aumento moderado na banda do ruído produz aumento na frequência de descarga. As unidades não monotônicas responderam com marcada diminuição na frequência de descarga frente a um estímulo semelhante. A maioria das unidades não monotônicas estavam localizadas no NCD, que também possuem amplas bandas inibitórias, sugerindo que a redução ocorreu quando o ruído entrou nessas regiões. Algumas células do NCD podem ser excitadas ou inibidas por estímulo sonoro contralateral (Mast, 1970, 1973).

#### 1.4 VIAS CENTRÍFUGAS PARA O NÚCLEO COCLEAR

O NC recebe fibras centrífugas de várias fontes. A maior inervação origina-se no complexo olivar superior. Também foram descritas fibras dos núcleos ventral e dorsal do lemnisco lateral, do colículo inferior e da formação reticular. Algumas das fibras centrífugas do complexo olivar superior consistem de ramos do feixe olivococlear. Outras correm ipsilateralmente pelas estrias acústicas intermediária e dorsal, e da oliva superior bilateralmente pelo corpo trapezóide. Assim como o FOC, a inervação centrífuga do NC não se origina nos núcleos principais associados com o sistema ascendente, mas em alguns dos núcleos circundantes pré e periolivares (Elverland, 1977; Adams e Warr, 1976). Esses núcleos recebem aferências do sistema auditivo, e as vias centrífugas podem ser ativadas

tanto por estímulos sonoros como por influências centrais.

A inervação centrífuga do colículo inferior origina-se lateralmente no colículo e desce junto à superfície ventral do tronco encefálico, onde curva-se e sobe dorsalmente para dentro das camadas centrais do NCD (Rasmussen, 1960).

As fibras dos núcleos do lemnisco lateral têm sido bem descritas embora nem todos os autores concordem em alguns detalhes. Os núcleos ventral e dorsal do lemnisco lateral em ambos os lados têm sido sugeridos como sítio de origem dessas fibras.

A formação reticular também estende projeções para o NC (Adams e Warr, 1976). Todas as divisões do NC recebem fibras centrífugas em diferentes graus de diferentes origens. Há considerável detalhe nas projeções, por exemplo, foram descritos 6 grupos de axônios centrífugos terminando por diferentes vias no NCAV (Cant e Morest, 1978).

### 1.5 FISILOGIA DS VIAS CENTRÍFUGAS PARA O NÚCLEO COCLEAR

Comis e Whitfield (1967, 1968) investigaram o comportamento de neurônios do NC em resposta à estimulação de várias vias centrífugas conhecidas por terminarem no NC. Estes autores encontraram que a estimulação da via do núcleo olivar superior para o NCAV excitou células do núcleo ipsilateral. Havia evidências de um efeito tipo "gating" da aferência auditória pelas vias centrífugas, já que esta estimulação pode baixar o limiar dos neurônios do NC. Por outro lado, a

estimulação da região lateral extrema da oliva superior, na região dos núcleos periolivar dorsolateral e préolivar lateral, inibiu células no NC (Comis, 1970). Não se sabe em que extensão esses efeitos podem ser explicados pela ativação de ramos do FOC que se dirigem diretamente para o NC. Há evidências de que esses ramos podem ser excitatórios e inibitórios. Starr e Wernick (1968) observaram que com a cóclea destruída, a estimulação do FOC cruzado aumentou a atividade espontânea do NC em 42% das células registradas e diminuiu em 16%. A estimulação de determinadas regiões do lemnisco lateral contralateral aumenta o limiar e produz inibição da descarga total, enquanto a estimulação de outras regiões do lemnisco lateral podem produzir facilitação (Comis e Whitfield, 1968). Então, há uma interação complexa de muitas vias centrífugas que terminam no NC e que ajuda a determinar se um neurônio particular responde ou não a um estímulo externo.

#### 1.6 CARACTERÍSTICAS DO SONO NA COBAIA

Dois estados de sono são distinguíveis em mamíferos adultos: o primeiro, sono lento (SL), é caracterizado pela associação de fusos com ondas lentas de alta voltagem no eletrocorticograma (ECoG), pela diminuição da atividade muscular na nuca e pela regularidade das frequências respiratória e cardíaca. O segundo, sono paradoxal (SP), caracteriza-se por ondas rápidas de baixa voltagem no ECoG

(Dement, 1958), pela perda do tônus muscular na nuca (Jouvet, 1967), por abalos musculares paroxísticos acompanhados por movimentos oculares rápidos e frequências respiratória e cardíaca irregulares. Assim, uma determinação acurada dos diferentes estados de alerta pode ser feita em mamíferos adultos examinando registros poligráficos de ECoG, EMG dos músculos da nuca, e eletrooculograma, junto com a observação do comportamento do animal.

Em mamíferos subprimatas, o hipocampo apresenta uma atividade rítmica cuja frequência está compreendida entre 3 e 12 Hz, chamada ritmo teta (Green e Arduini, 1954). Esta atividade está relacionada com os movimentos, tanto em vigília como durante o SP. A percentagem de tempo ocupada por cada estado varia de acordo com a espécie. Em 24 horas de registro de sono, a cobaia adulta apresenta 49,3 % de vigília, 48,0% de SL e 2,7% de SP (Jouvet e col., 1969). Em animais recém-nascidos as características do ECoG não são as mesmas de animais adultos, de acordo com a maturidade do SNC. Em mamíferos recém-nascidos com um sistema nervoso relativamente maduro como a cobaia, as características do ECoG em vigília e SP são semelhantes às do adulto. No entanto, o SL difere no primeiro mês por não apresentar fusos.

#### 1.7 ATIVIDADE DO SISTEMA AUDITIVO DURANTE O CICLO SONO-VIGÍLIA

O processamento de informações durante o sono é um fato estudado por muitos autores. Este processamento pode integrar

informação externa ou interna, o que constitui um processo de elaboração complexo que continua durante o sono, podendo inclusive determinar o despertar. Alguns autores demonstraram que as amplitudes do pAC e MC são vinculadas ao sono (Pedemonte e Velluti, 1984; Velluti e García-Austt, 1969; Velluti e col., 1989). Os resultados de estudos sobre o comportamento dos potenciais cocleares durante o sono são contraditórios. Baust (1964) não observou alterações no pAC durante o ciclo sono-vigília, analisando os dados sem processamentos tal como a promediação. Irvine e col. (1970) encontraram aumento na amplitude do pAC durante sono lento (SL), embora os mesmos não tenham reproduzido seus próprios resultados (Irvine e Webster, 1972). O potencial evocado no córtex auditivo aumenta durante SL, voltando a níveis similares aos de vigília durante o sono paradoxal (Herz, 1965). O registro da atividade unitária no córtex auditivo também foi semelhante durante vigília e SP (Arduini, 1962; Evarts, 1962). Os potenciais auditivos evocados foram estudados em bebês (Ornitz e col., 1969), em crianças e em adultos (Ornitz e col., 1967), demonstrando que durante SL e SP estes potenciais aumentavam sua amplitude e sua latência, com diferenças no SP dependentes dos movimentos oculares rápidos (Halász e Ujászsi, 1988). O registro unitário do NC também apresentou alterações durante as diferentes etapas do ciclo sono-vigília, aumentando durante o SL e diminuindo durante o SP a valores similares aos de vigília (Pedemonte e Velluti, 1987; Velluti e col., 1990).

Considerando que o sistema auditivo possui um poderoso sistema eferente, e que já é comprovada sua ação a nível periférico, cóclea e nervo auditivo, julgou-se interessante a investigação dessa ação no NC, que representa o neurônio de segunda ordem dessa via aferente.

Um neurônio do sistema auditivo, como provavelmente de qualquer outro sistema sensorial, responde a seu estímulo específico de uma maneira característica, mas dependente também do estado do SNC. Mantendo constante o estímulo produzir-se-ão variações na forma de descarga dos neurônios auditivos em relação às importantes modificações fisiológicas que significam a passagem ao sono. Sistemas de saída, eferentes, serão os responsáveis pela modulação da atividade desses neurônios de acordo com as necessidades e/ou modificações ocorridas nesse sistema nervoso.

## 2. OBJETIVOS

A hipótese básica é que a informação auditiva deve ser significativa durante o sono para, por exemplo, a detecção de possíveis predadores, outros fatores importantes para a sobrevivência, etc. O sistema auditivo é o único telerreceptor que pode permanecer relativamente "aberto" durante o sono em um animal microsmático, como o homem. Portanto, esta será a única informação do meio ambiente eventualmente processável pelo animal durante o sono.

Estudos sobre a atividade do nervo auditivo (Velluti e col., 1989) sugerem a existência de neurônios no NC que incrementem sua descarga durante o SL e outros que diminuam durante o SP. Portanto, como o sistema auditivo apresenta, em vários níveis, modificações durante o ciclo sono-vigília, este trabalho teve como objetivos:

1. Obter um sistema mediante o qual se possa registrar extracelularmente a atividade unitária do NC, enquanto a cobaia realiza seu comportamento normal. Esse sistema deverá permitir o registro extracelular de um neurônio do NC, estabelecendo sua frequência característica e submetendo-o à estimulação sonora. O processamento das respostas será realizado pelo estudo dos histogramas peri e pós-estímulo e a correspondente análise estatística do número de espículas.

2. A partir disso, estudar as variações que a passagem a outras etapas de comportamento, como vigília, sono lento e sono paradoxal, possam provocar em sua resposta ao estímulo sonoro.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 ANIMAIS

Utilizaram-se 34 cobaias, adultas, de ambos os sexos, com peso entre 500-700 g. Esses animais foram preparados cirurgicamente para registro extracelular da atividade unitária no núcleo coclear durante o ciclo sono-vigília, sob estimulação sonora. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos em um ciclo luz/sombra de 12/12 horas, alimentados normalmente com pasto e ração, durante aproximadamente uma semana, quando começavam as sessões de registro. A partir do segundo dia pós-operatório, foram submetidos a treinamento de acordo com as condições de cada animal.

### 3.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Sob anestesia com pentobarbital sódico (35 mg/kg, i.p.) os animais foram submetidos à implantação de elétrodos para controle do comportamento, registrando eletrocorticograma (ECoG), eletromiograma (EMG) e atividade elétrica no hipocampo (HIP). Colocados em posição estereotáxica realizou-se incisão sagital na linha média e dissecação, deixando o crânio exposto. Após a desinserção e ressecção do músculo temporal esquerdo, foi aberto um orifício na escama do osso temporal esquerdo de aproximadamente 4 mm de diâmetro. Neste orifício foi colocado um tubo de polietileno de aproximadamente 3 mm de diâmetro interno, que permite a chegada do estímulo sonoro diretamente

à cóclea.

É conhecido que os fatores que controlam o influxo sensorial auditivo no animal livre são: a) a posição da cabeça e das orelhas em relação à fonte sonora; b) a ação dos músculos do ouvido médio e c) o efeito centrífugo através do sistema olivococlear. Procurou-se eliminar os efeitos pré-receptoriais, desinserindo os músculos e desarticulando a cadeia ossicular do ouvido médio. Além disso, foi mantida uma relação constante entre a fonte sonora e o ouvido interno, já que o estímulo sonoro foi aplicado diretamente no ouvido médio, através de um altofalante conectado ao tubo implantado na escama do osso temporal mediante outro tubo de longitude conhecida. Este método vem sendo utilizado com êxito no laboratório de Neurofisiologia da Faculdade de Medicina em Montevideo.

Seguindo coordenadas estereotáxicas do atlas de Luparello (1967) abriram-se orifícios no crânio, com broca de 1/16 polegadas, no hipocampo (P:6, L:2, H:4) e córtex cerebral. As coordenadas estereotáxicas do núcleo coclear foram encontradas previamente por secções progressivas. Estas coordenadas foram P:2-4, L:3-4 e H:6-8. O orifício do NC foi alargado com pinça até um diâmetro adequado (4 mm X 4 mm) para abarcar toda a extensão do NC. Em cada um dos orifícios corticais (córtex parietal) foi colocado um macroelétrodo (250  $\mu$ m de diâmetro) de nichrome com superfície ativa de 1,5 mm, junto com um parafuso para melhor fixação ao crânio. Um eletrodo semelhante foi colocado no córtex frontal para

registro de referência. Também foram implantados elétrodos do mesmo tipo nos músculos da nuca e mastigatórios do lado direito para registro de eletromiograma (EMG). Os elétrodos colocados no hipocampo consistiram em uma trança de nichrome, cujas superfícies ativas foram as secções de ambas as pontas de um extremo da trança, separadas entre si por 0,5 mm.

Todos os elétrodos foram fixados a dois conectores através de uma agulha de duas bocas, enrolando-os a cada saída dos conectores e evitando contato entre eles. Os elétrodos, conectores e cânula foram fixados ao crânio com acrílico dental. Também foram fixadas duas barras de metal que permitiram reproduzir a posição estereotáxica nas sessões de registro. Esta técnica permite o registro de períodos de vigília e sono fisiológicos, sem uso de drogas, e a reprodução da posição estereotáxica para registro da atividade unitária do NC.

### 3.3 ESTIMULAÇÃO E REGISTRO

Foram utilizados dois tipos de estímulo sonoro: "pips" e estalidos. O "pip" é um tom puro, coerente, isto é, começa sempre na mesma fase da onda, com lentos ascensos (5 ms) no começo e lentos descensos (5 ms) no final. Estes foram aplicados a uma frequência de 2-4 por segundo e com 50 ms de duração. Estes "pips" foram obtidos a partir de um gerador de audiofrequências Hewlett Packard. Os "pips" foram usados para estimular os neurônios com sua frequência característica (FC),

isto é, a frequência de estímulo capaz de gerar resposta com a menor intensidade deste estímulo. O estalido consiste na resposta de um altofalante a um pulso retangular de voltagem. Este foi gerado por um estimulador Grass S88, e aplicado a uma frequência de 2-4 por segundo e com duração de 0,5 ms. O estalido é um som que possui um espectro de frequências muito amplo e foi utilizado para localizar o NC através do potencial evocado. Esses estímulos foram amplificados por meio de um audioamplificador Heathkit AA-161 e emitidos por um pequeno altofalante conectado ao tubo implantado na escama do osso temporal mediante outro tubo de longitude conhecida. A intensidade dos estímulos foi mantida em torno de 30-40 dB SPL (nível de pressão sonora), medida através de um decibelímetro na ponta do tubo implantado no animal.

Utilizando micropipetas de vidro A-M Systems 6020 com resistência de ponta de aproximadamente 10 megohms, realizou-se registro extracelular da atividade unitária do NC. As micropipetas foram introduzidas no NC por meio de um micromanipulador hidráulico (Narishige MO-8) permitindo a localização do NC através do registro do potencial evocado e também a localização de um neurônio isolado que responde ao som ou espontâneo. Esses sinais bioelétricos foram amplificados por um amplificador Minilab M074B, monitorizados em um osciloscópio Hewlett Packard (132A Dual Beam) e gravados em videocassete Akai com uma unidade adaptadora para posterior processamento (fig. 1).

Com o objetivo de diminuir os movimentos dos animais

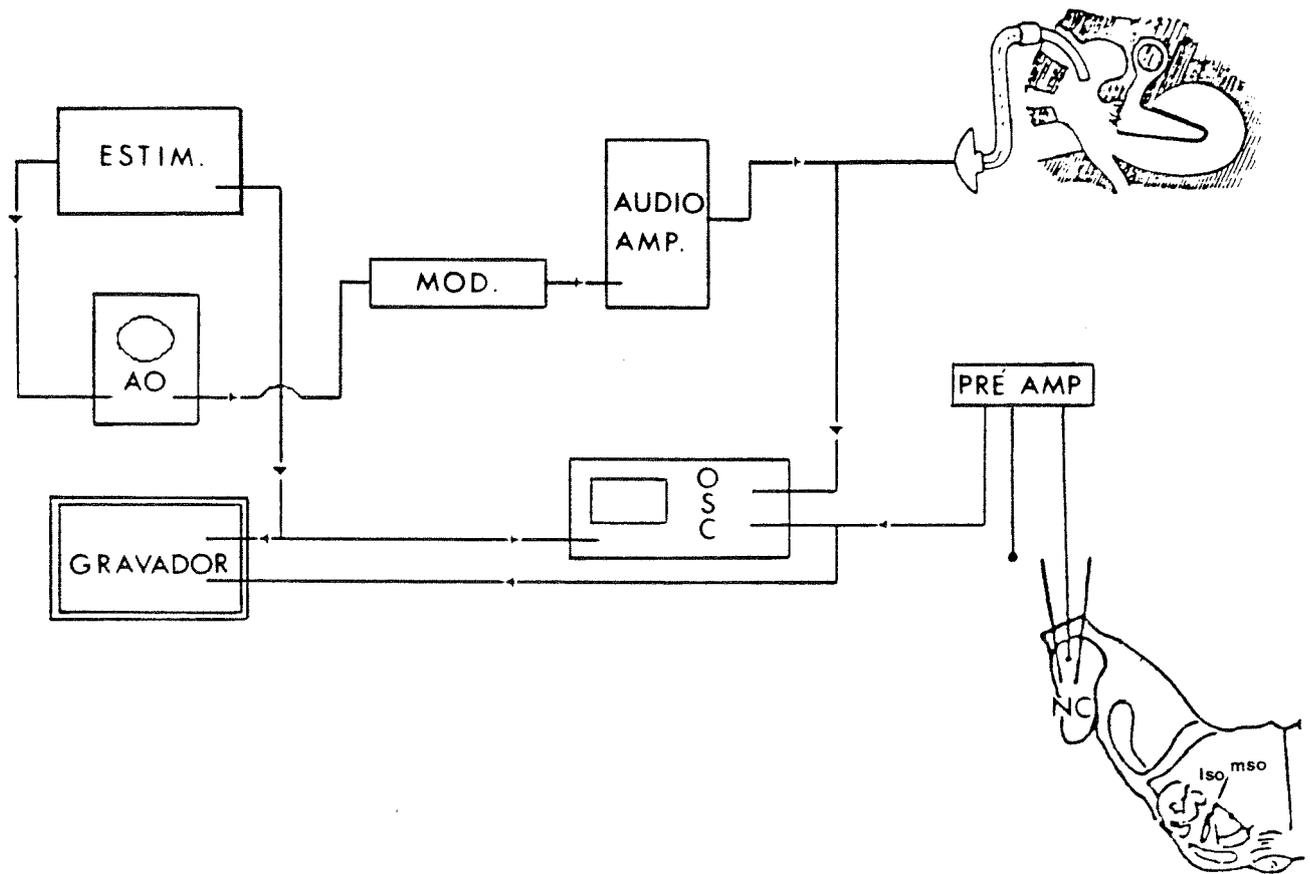
durante as sessões de registro, estes foram previamente treinados sendo colocados várias vezes na posição de registro, e em alguns casos foram privados de sono durante 1-3 horas, utilizando-se uma roda giratória na qual os animais são obrigados a caminhar continuamente. Nas sessões de registro propriamente dito os animais foram colocados em um saco de pano com uma abertura para a cabeça, permitindo-lhes uma certa limitação de movimentos sem excessivo "estresse"; e, foram pendurados pelo tórax em uma barra perpendicular agregada ao estereotáxico, evitando que o animal apoiasse as patas, ficando este preso somente pelas barras fixadas ao acrílico (fig. 2). Foram mantidos aquecidos com uma bolsa de água morna e colocados sob uma caixa de isopor atenuante dos ruídos ambientais.

Após as gravações, a área registrada foi marcada com "sky blue", previamente colocado dentro da pipeta, fazendo passar através do eletrodo negativo dentro da pipeta uma corrente DC de 3-5  $\mu$ A durante 2-3 minutos. Este procedimento permitiu o estudo histológico posterior confirmando a exata localização do eletrodo no NC. (fig. 3).

#### 3.4 PROCESSAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Através de um exame cuidadoso dos registros de ECoG, EMG, HIP e do comportamento, foram selecionados períodos de vigília tranqüila, sono lento e sono paradoxal. Foi utilizado um computador IBM PC AT que realizou histogramas pós estímulo

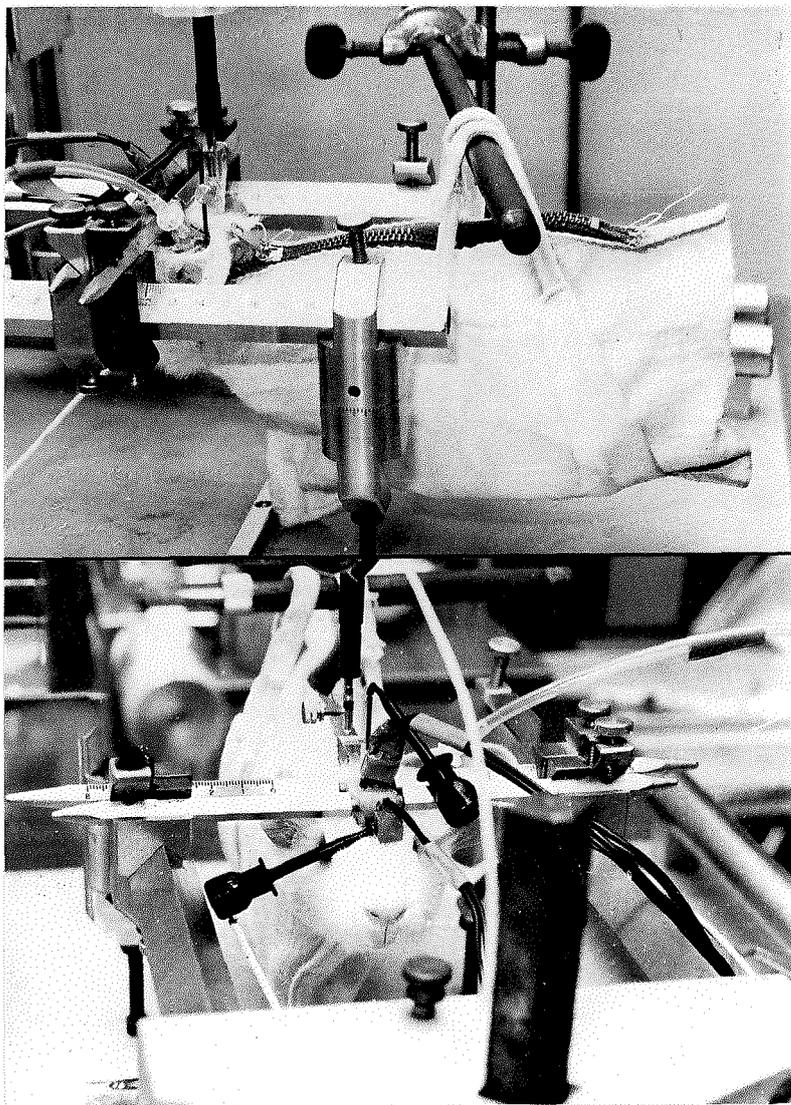
(HPE). As respostas unitárias foram submetidas a um nível Smith-Trigger para computar somente a unidade com maior amplitude em resposta ao tom. Analisaram-se os dados através do teste não paramétrico de Mann Wittney, comparando os resultados obtidos durante os diferentes estágios do ciclo sono-vigília. O computador permite conhecer as descargas (n) correspondentes a cada histograma, a validade estatística das variações e as probabilidades de descarga X tempo.



**FIG.1: ESQUEMA DA ESTIMULAÇÃO AUDITIVA E REGISTRO.**

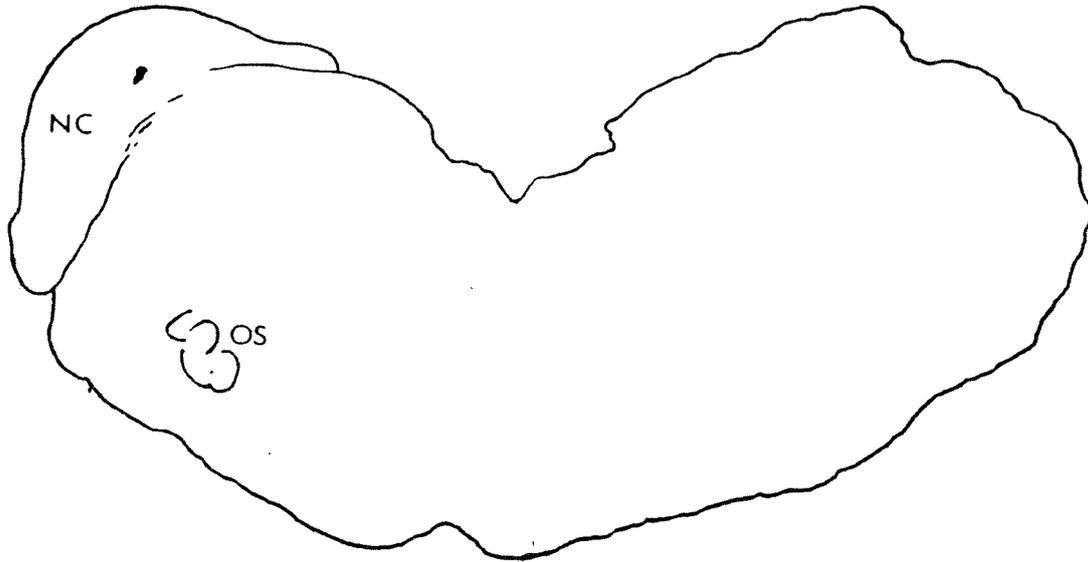
A figura mostra o tubo de polietileno implantado à cóclea e as conexões realizadas para a estimulação auditiva e registro no NC. Abaixo está representado o eletrodo de registro dentro da micropipeta introduzida no NC.

AO: Audio oscilador; AUDIO AMP: Audio amplificador; ESTIM: Estimulador; GRAVADOR: Gravador; LSO: Oliva superior lateral; MOD: Modulador de tons-pip; MSO: Oliva superior medial; NC: Núcleo coclear; OSC: Osciloscópio; PRÉ AMP: Pré amplificador.



**FIG. 2: SESSÃO DE REGISTRO**

As fotografias mostram as cobaias em uma sessão de registro suspensas pela barra transversal e presas ao aparelho estereotáxico através das barras metálicas implantadas junto com os elétrodos.



**FIG. 3: LOCALIZAÇÃO DO ELÉTRODO APÓS O REGISTRO**

Desenho em câmara clara onde se observa a marca do "sky blue" feita através da micropipeta introduzida no NC. NC: Núcleo coclear; OS: Oliva superior.

## 4. RESULTADOS

Das 34 cobaias utilizadas obteve-se o registro da atividade unitária de 22 neurônios do NC. Durante os diferentes estados do ciclo sono-vigília, estes neurônios foram estimulados continuamente com "pips" de frequência igual à frequência característica de cada neurônio. As respostas destas unidades foram estudadas através dos histogramas pós-estímulo (HPE) e do número de espículas que compõem cada histograma. O número de unidades processadas foi reduzido devido à grande dificuldade em se obter o registro das respostas do NC em todas as fases do ciclo. Além disso, a utilização de animais nas condições citadas, sem uso de drogas, também dificulta a obtenção de dados, na medida em que, apesar do treinamento exaustivo desses animais, alguns não se adaptaram à metodologia e não foi possível obter registro de sono.

Observou-se grande variabilidade da atividade dos neurônios registrados. Por essa razão, cada neurônio foi considerado seu próprio controle, comparando-se os valores obtidos durante vigília (V), sono lento (SL) e sono paradoxal (SP). Esses neurônios, ou unidades, foram numerados de 1 a 22 e foi selecionado um período de cada estágio do ciclo para a análise dos dados, seguindo os critérios clássicos para o estudo do sono.

A determinação precisa de cada etapa do ciclo sono-vigília foi realizada através da observação do comportamento do animal e do exame visual cuidadoso dos registros poligráficos da atividade elétrica tanto do córtex

cerebral (ECoG) e do hipocampo (HIP), como do eletromiograma (EMG). A figura 4 mostra um registro característico de um ciclo sono-vigília na cobaia. Verifica-se que a vigília apresenta um EMG ativo e ondas rápidas e de baixa voltagem no ECoG e HIP. Além disso, observa-se no HIP o ritmo teta, sabidamente associado à vigília ativa e ao sono paradoxal. Durante o SL, aparecem ondas lentas e de alta voltagem tanto no ECoG como no HIP, junto com um EMG menos ativo que o de vigília. No registro correspondente ao SP, observa-se o ritmo teta característico em HIP, EMG com hipotonia marcada e abalos musculares, além do ECoG que se apresenta semelhante ao de vigília, com ondas rápidas e de baixa voltagem.

O padrão de resposta predominante durante o SL em relação à V foi o de aumento do número de espículas, como é exemplificado na figura 5. Nesta unidade (#12) verificou-se o aumento da resposta durante o período de SL em relação à V. O número de espículas do HPE relacionado no tempo em resposta ao estímulo auditivo foi de 263 em vigília e 346 durante o sono lento. Este aumento é estatisticamente significativo a uma  $p < 0,001$ .

Devido à pequena proporção de SP no ciclo S-V da cobaia (2,7%), o número de registros obtidos em SP foi menor do que os de SL. Apesar das dificuldades técnicas encontradas, foi possível o processamento e observa-se grande variabilidade nos padrões de resposta. Na figura 6 evidenciam-se dois padrões de resposta distintos, obtidos nas unidades 5 e 15, representados pelo HPE e pelo número de espículas, em V-SL-SP. Na unidade

15, o número de espículas dos HPEs aumenta progressivamente ao longo do ciclo (579-779-962), enquanto que na unidade 5 a resposta, após aumentar durante o SL, volta a diminuir no SP (225-360-308). Essas diferenças foram estatisticamente significativas, em relação à V e/ou SL/SP. Outros neurônios apresentaram padrões de resposta diferentes, como o aumento do número de espículas em SL mantendo-se elevado em SP ou ainda diminuindo em SL e SP.

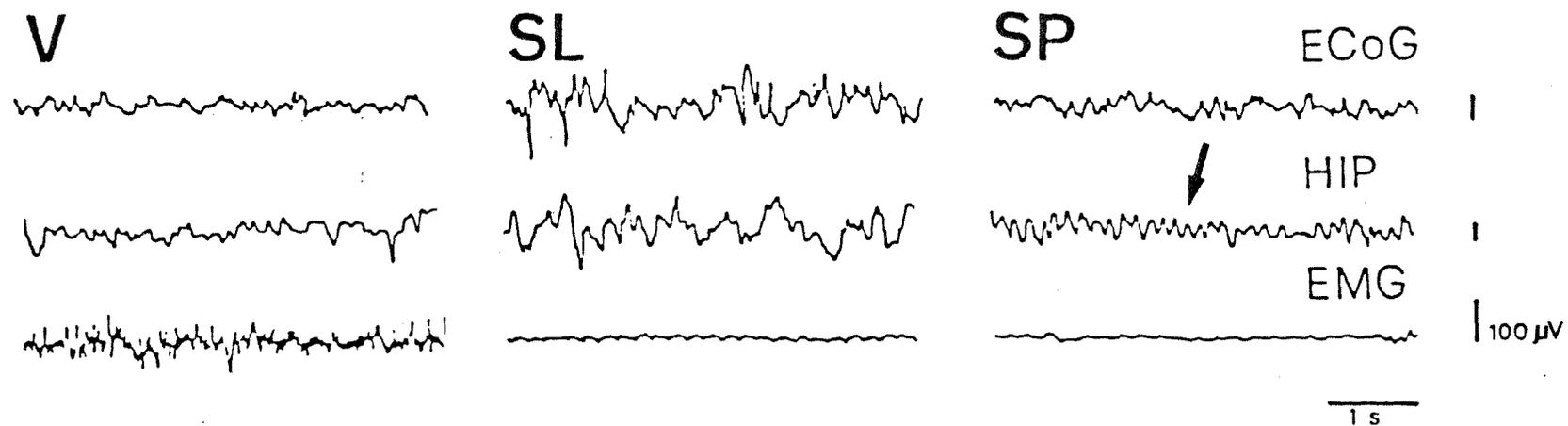
Além das diferenças nas respostas do NC ao estímulo auditivo durante os estados do ciclo, observaram-se diferenças estatisticamente significativas na atividade de um mesmo neurônio durante dois períodos de vigília distintos. Verifica-se, na figura 7, que a resposta obtida durante o registro de uma vigília ativa (Va) foi significativamente menor do que a resposta em vigília tranqüila (Vt) e SL. O registro de uma vigília tranqüila mostra um EMG de baixa voltagem e a atividade elétrica do hipocampo característica de vigília. O número de espículas do HPE correspondente à resposta desse neurônio ao estímulo auditivo durante essa vigília (Vt) foi de 324. No registro de vigília ativa, com o EMG mostrando claramente um movimento do animal, o número de espículas do HPE que reflete a resposta ao "pip" nesse período foi de 186. Observa-se ainda, na figura 7, o registro poligráfico característico de sono lento e o HPE com 369 espículas. Evidencia-se, novamente, o aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da resposta durante o período de SL em relação à V. Deve-se ressaltar a diminuição importante da resposta durante

a  $V_a$  em relação à  $V_t$  ( $p < 0,001$ ). Por essas diferenças, consideraram-se apenas as respostas obtidas em vigília tranqüila para a análise dos dados.

Além das diferenças quantitativas observaram-se diferenças qualitativas nas respostas, isto é, mudanças na forma do HPE entre os estados do ciclo, o que demonstra um tipo de resposta diferente. Na figura 8 são apresentados os HPEs e o número de espículas em duas vigílias, SL e SP da unidade 14. No histograma da primeira vigília observa-se um espaço que desaparece nos períodos de SL e SP. Na vigília posterior obteve-se aumento significativo no número de espículas e a passagem do HPE ao tipo "chopper". Através de um varrido único no osciloscópio, constatou-se que as formas dos potenciais de ação são iguais, demonstrando que a mesma unidade disparou de forma distinta nos diferentes estágios do ciclo sono-vigília.

Considerando a complexidade anatômica e fisiológica do NC, e a diversidade das respostas obtidas, optou-se por apresentá-las em forma percentual, permitindo uma visão geral do comportamento das unidades registradas. Comparando os valores obtidos em SL e V (fig.9-a), verifica-se que em 22,7% das unidades registradas não houve alteração, em 50% os valores em SL foram significativamente maiores do que os obtidos em V e em 27,3% os valores em SL foram menores do que os em V. Comparando SL e SP (fig.9-b), observou-se que em 30% das unidades não houve variação, em 50% os valores de SP foram maiores do que os de SL e em 20% foram menores. Entre V e SP

(fig. 9-c) não houve alteração em 40% das unidades, enquanto em outros 40% os valores de SP foram maiores que os de V e em 20% foram menores.



**FIG. 4: REGISTRO POLIGRÁFICO DE SONO EM COBAIAS**

A figura mostra o registro da atividade elétrica cortical (ECoG), do hipocampo (HIP) e eletromiograma (EMG) durante os diferentes estágios do ciclo sono-vigília. A flecha aponta o ritmo teta no registro de hipocampo em SP.

V: Vigília; SL: Sono lento; SP: Sono paradoxal; Calibração: 1s-100 μV.

#12

V

FC:900Hz n:263

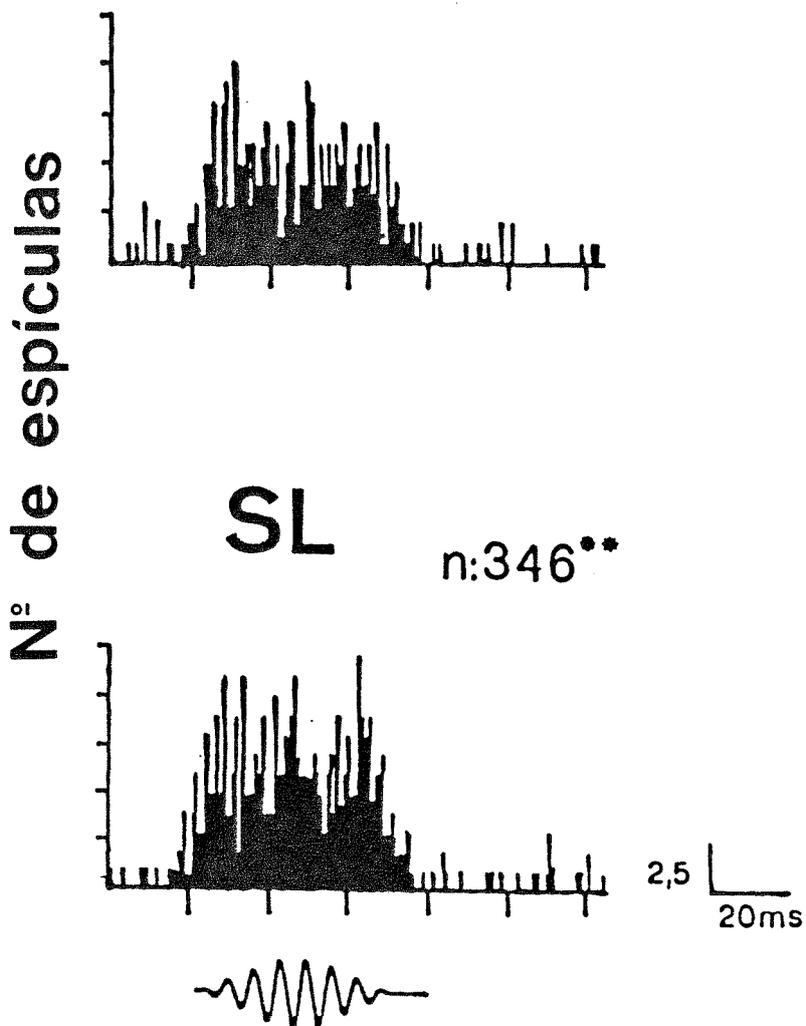


FIG. 5: HISTOGRAMA PÓS-ESTÍMULO DE UMA UNIDADE DURANTE UM PERÍODO DE VIGÍLIA E DE SONO LENTO. A figura indica a resposta do NC à estimulação auditiva, em número de espículas, nos estados de vigília e sono lento.

FC: Frequência característica; n: número de espículas; V: Vigília; SL: Sono lento; Calibração: 2,5 espículas-20 ms; Pip com duração de 50 ms.

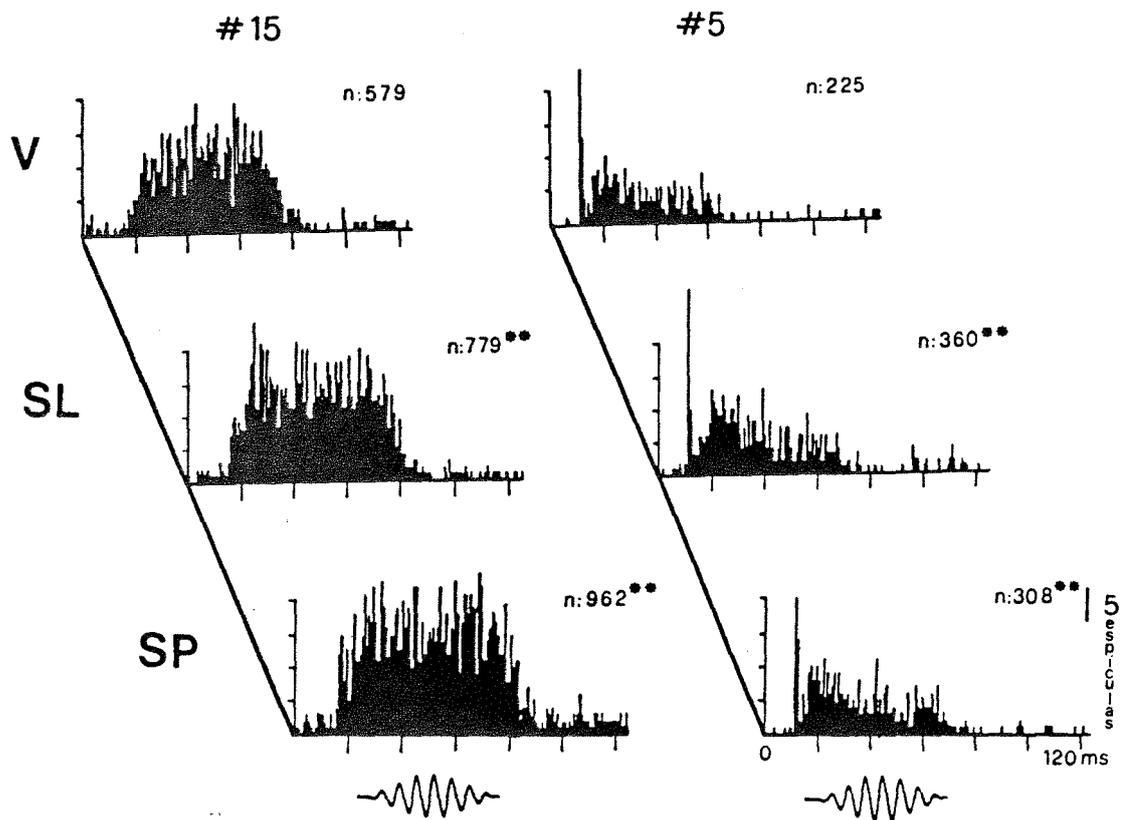


FIG. 6: HISTOGRAMAS PÓS-ESTÍMULO EM UM CICLO V-SL-SP EM DUAS UNIDADES, DE ANIMAIS DISTINTOS.

V: Vigília; SL: Sono lento; SP: Sono paradoxal; n: número de espículas; Calibração: 5 espículas-120 ms.

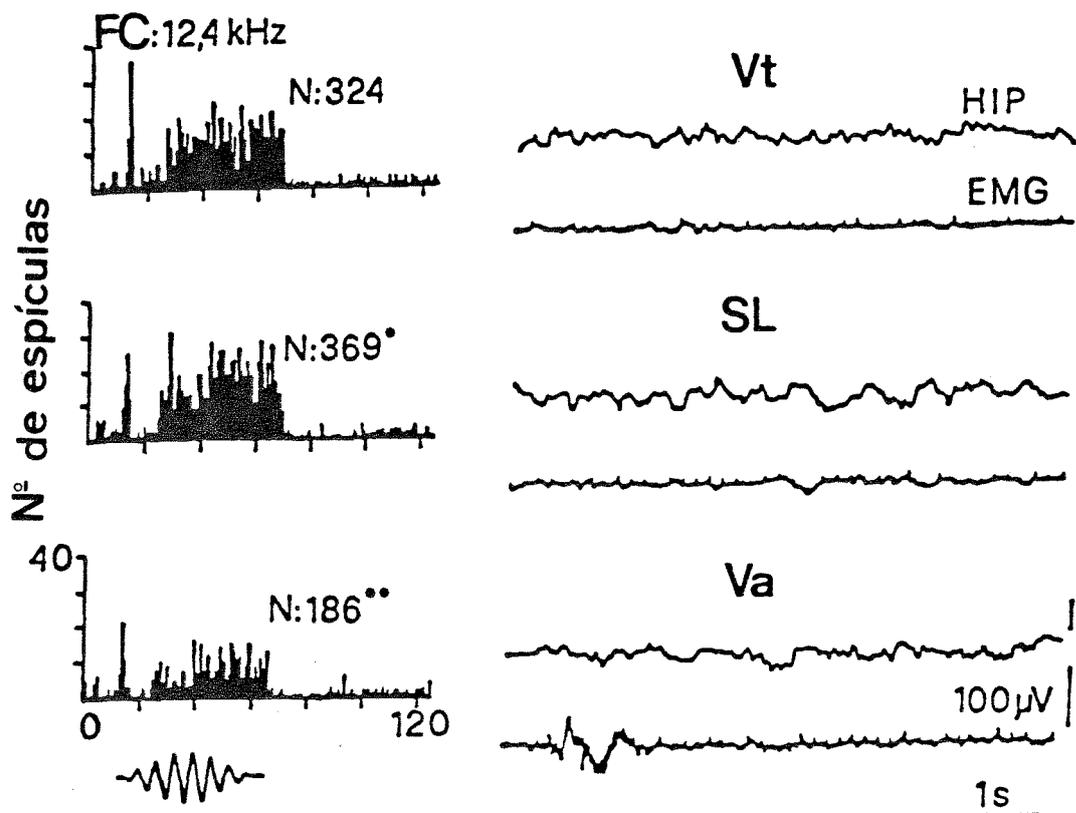


FIG. 7: HISTOGRAMAS PÓS-ESTÍMULO E REGISTRO POLIGRÁFICO EM VIGÍLIA TRANQUÍLA, SONO LENTO E VIGÍLIA ATIVA

Observa-se, à direita, o registro da atividade elétrica em hipocampo e os eletromiogramas correspondentes aos períodos de vigília tranqüila, sono lento e vigília ativa. À esquerda, as respostas ao "pip" representadas pelo número de espículas e pelos histogramas pós-estímulo nos mesmos períodos.

EMG: Eletromiograma; FC: Frequência característica; HIP: Hipocampo; N: Número de espículas; SL: Sono lento; Va: Vigília ativa; Vt: Vigília tranqüila; Calibração: 1s-100  $\mu$ V. Estatisticamente significativo em relação à vigília, \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,001$ .

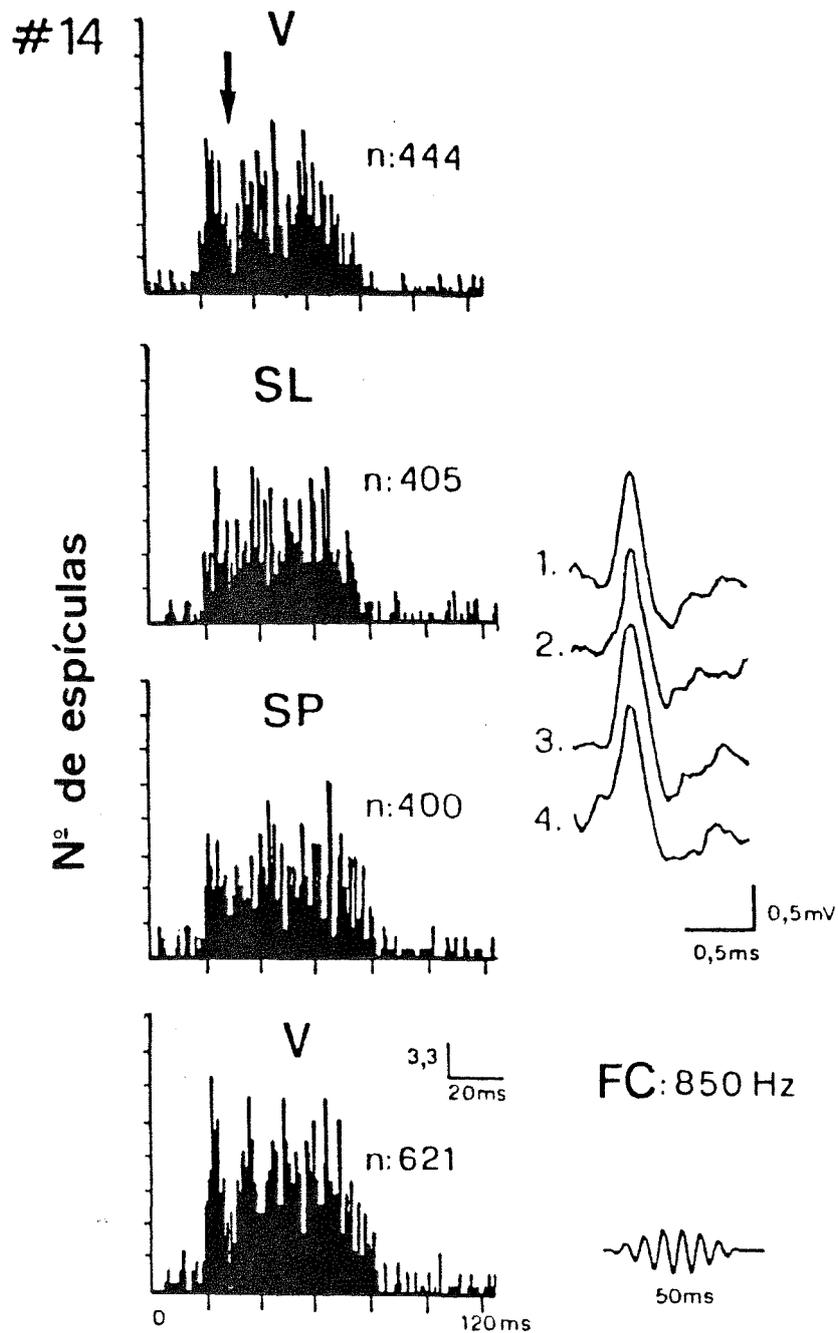


FIG. 8: HISTOGRAMA PÓS-ESTÍMULO EM UM CICLO SONO-VIGÍLIA: ALTERAÇÕES NA FORMA DOS HISTOGRAMAS DURANTE AS FASES DO SONO. Observam-se, à esquerda, os histogramas correspondentes às respostas deste neurônio nas diferentes etapas do ciclo sono-vigília. A flecha indica um espaço nos histogramas de vigília que desaparecem durante o SL e SP. À direita, os potenciais de ação das mesmas etapas do ciclo obtidos através de um varrido único no osciloscópio.

FC: Frequência característica; n: número de espículas; SL: Sono lento; SP: Sono paradoxal; V: Vigília.

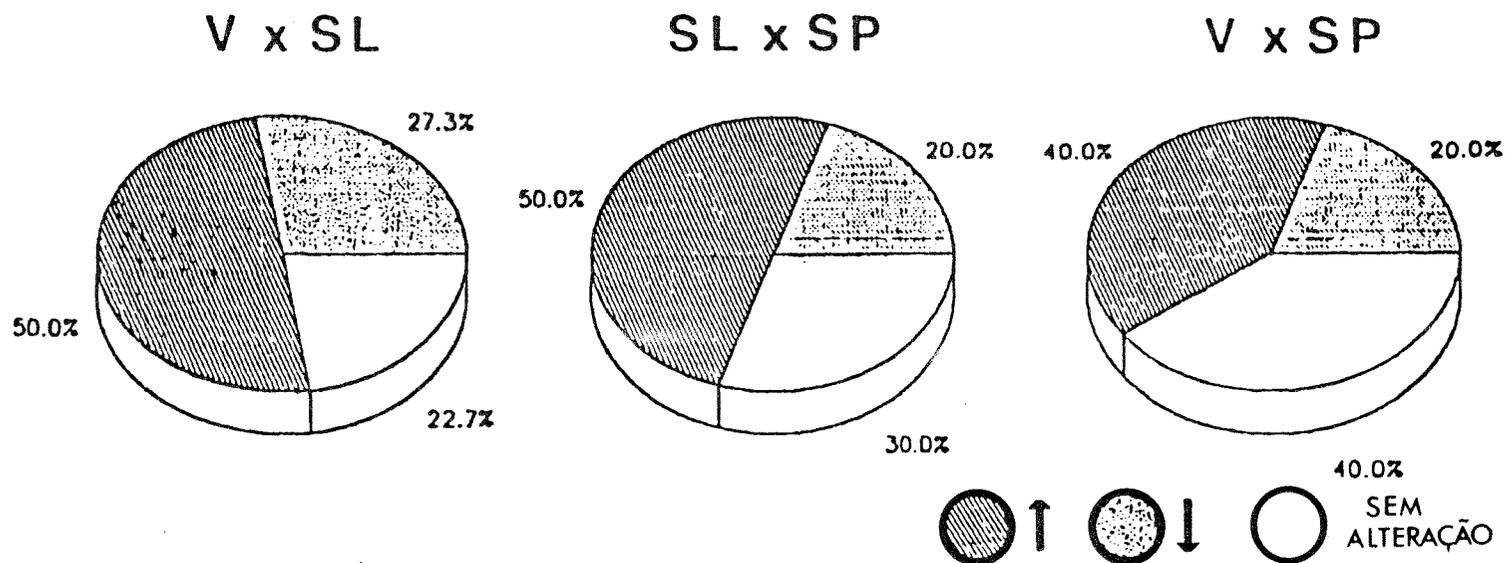


FIG. 9: VARIACÕES DAS RESPOSTAS DO NC NOS DIFERENTES ESTADOS DO CICLO SONO-VIGÍLIA.

Os valores representam a percentagem de unidades em que houve aumento (↑), diminuição (↓) ou ausência de variação na atividade unitária do NC, durante os estágios do ciclo sono-vigília.

V: Vigília; SL: Sono lento; SP: Sono paradoxal.

## 5. DISCUSSÃO

Neste trabalho foi estudada a atividade unitária do NC dependente do estado comportamental, em cobaias. Esta técnica bastante elaborada permite, principalmente, a eliminação dos fatores pré-receptoriais e o registro da atividade unitária do NC durante sono fisiológico e vigília.

É conhecido que os fatores que controlam o influxo sensorial auditivo no animal livre são: a) posição da cabeça e das orelhas em relação à fonte sonora; b) ação dos músculos do ouvido médio; e c) efeito centrífugo através do sistema olivococlear e demais aferências centrais, que chegam ao NC. Para examinar os efeitos centrais é necessário eliminar os fatores pré-receptoriais. Não houve variação na posição da cabeça e das orelhas em relação à fonte sonora, uma vez que durante as sessões de registro o animal foi mantido em posição estereotáxica, preso através das barras metálicas transversais fixadas ao acrílico. Para evitar a ação dos músculos do ouvido médio, estes foram desinseridos e a cadeia ossicular desarticulada. Além disso, foi mantida constante a relação entre a fonte sonora e o ouvido interno, já que o estímulo sonoro foi aplicado diretamente no ouvido médio. Os animais foram colocados sob uma caixa atenuante de ruídos ambientais, o que reduz o efeito de outros ruídos externos. Alguns ruídos internos, como as contrações musculares, foram controlados através da utilização apenas dos registros obtidos em vigília tranqüila, considerando que a atividade muscular seja semelhante à do sono lento. Uma vez eliminados os fatores pré-receptoriais, restam as influências das vias centrífugas

como determinantes das variações da atividade do NC.

O desenvolvimento desta técnica é de grande importância, uma vez que foi contornada a enorme dificuldade que existe no registro "in vivo", em animal não anestesiado, de sono fisiológico concomitante com o registro extracelular da atividade unitária do NC. No entanto, talvez o mais significativo desta técnica seja a reprodução da posição estereotáxica, que permite a introdução de uma micropipeta com um eléctrodo para o registro da atividade unitária do NC, juntamente com o registro de sono fisiológico. Além da obtenção de bons registros extracelulares da atividade do NC, a comprovação histológica da localização do eléctrodo de registro assegura a eficácia da técnica. Outro passo importante e difícil foi a obtenção de sono fisiológico em um animal preso ao estereotáxico, suspenso pelo tórax e com movimentos restringidos pela bolsa de pano. O treinamento prévio desses animais foi indispensável, embora algumas cobaias não tenham se adaptado à metodologia empregada apesar do exaustivo treinamento. O treinamento satisfatório permitiu que os animais ficassem quietos o suficiente para dormir, sem uso de drogas, garantindo o registro de sono fisiológico. Quanto ao registro de sono a técnica atingiu seu objetivo, já que foram obtidos bons registros de sono paradoxal que é bastante rápido e infrequente no ciclo sono-vigília da cobaia. Esses dados discutidos acima permitem considerar esta técnica factível e satisfatória, apesar de ter sido utilizada pela primeira vez em cobaias.

Os resultados obtidos nestes experimentos confirmam parcialmente os dados de bibliografia que demonstram o aumento da resposta unitária do NC durante o SL (Pedemonte e Velluti, 1987). Estudos que examinaram o potencial composto do nervo auditivo (pAC), que é o primeiro neurônio da via auditiva, e os potenciais microfônicos cocleares (MC), durante o ciclo sono-vigília, demonstraram um aumento na amplitude desses potenciais durante o SL e subsequente diminuição nos períodos de SP (Velluti e col., 1989).

Deve-se considerar que o NC é a primeira estação central da via auditiva aferente e que já aí as respostas refletem algum tipo de processamento, e por isso mesmo mostram-se mais complexas. Os resultados destes experimentos mostram que, comparando os dados obtidos durante SL e V, em 50% das unidades registradas houve aumento significativo das respostas durante SL. Passando de SL a SP, observou-se que houve aumento da resposta em 50% das unidades. Além disso 20% dos neurônios mostraram diminuição da resposta durante o SP. Esta população neuronal mostrou correlação com o demonstrado previamente no primeiro neurônio (Velluti e col., 1989).

Sabe-se que o NCAV mantém o mesmo tipo de resposta do nervo auditivo e, como a maioria dos neurônios registrados estava localizada no NCAV, justificar-se-ia o predomínio desse tipo de resposta (PRI) nestes experimentos. Por outro lado, são conhecidas as conexões entre o NCD e as outras divisões do NC (Lorente de Nó, 1933; Rasmussen, 1960; Osen, 1969), o que, junto com outros fatores, poderia explicar a grande

variabilidade dessas respostas. Deve-se considerar, também, a distribuição não uniforme do nervo auditivo nas diversas regiões do NC, o que evidencia a complexidade deste núcleo. Vários autores observaram os diversos tipos celulares do NC (Brawer, 1974) e seus padrões de resposta também diversos (Pfeiffer, 1966a), o que contribui para a variabilidade das respostas do NC como um todo. Evidências de microscopia eletrônica sugerem que as células do NC, que parecem receber menor número de aferências do nervo auditivo, podem receber maior quantidade de aferências e uma diversidade de contatos sinápticos não cocleares (Caspary, 1986), o que pode refletir uma maior variedade de influências extracocleares nas respostas do NC. Há variações fisiológicas regionais, o que revela diferenças anatômicas nos tipos celulares e neurópilo (Caspary, 1968; Osen, 1968; Ramon y Cajal, 1909, 1911) e resultam em padrões de resposta que frequentemente não lembram os padrões descritos para o nervo auditivo. Estudos intra e extracelulares subseqüentes mostram que as respostas podem estar correlacionadas com tipos neuronais específicos dentro de diferentes regiões do NC (Caspary, 1972; Godfrey e col., 1975; Rhode e col., 1983; Starr e col., 1970).

Os influxos cocleares para os principais tipos de células do NC desaparecem após secção do nervo auditivo ou ablação da cóclea e são considerados como a maior aferência excitatória para os neurônios do NC. Dentre os influxos extracocleares que chegam ao NC, destacam-se no NCAV os provenientes do complexo olivar superior, núcleos do lemnisco

lateral, colículo inferior e regiões não auditivas do tronco encefálico, e outros influxos do NCD e talvez do NCPV (Rasmussen, 1967; Osen, 1969; Lorente de Nó, 1933). Os dois maiores grupos de células localizados no NCAV e subtipos dessas células recebem pelo menos quatro tipos de terminais sinápticos que não degeneram após a secção do nervo auditivo. Estudos microscópicos demonstram que neurônios do NCPV primariamente recebem influxos de regiões adjacentes ao complexo olivar superior, do colículo inferior, do lemnisco lateral e do NC contralateral (Kane, 1977, 1979). Além dos influxos cocleares heterotípicos, a célula tentaculada recebe projeções descendentes de muitas áreas do tronco encefálico que contribuem para o padrão de descarga temporal característico. No mínimo quatro tipos de sinapses são descritas na árvore dendrítica ou soma das células fusiformes (CNCD). Influxos não primários, que não degeneram após secção do nervo auditivo, podem vir das células granulosas, neurônios do NCAV e fontes extrínsecas como as descritas para as outras regiões.

Assim, a rica inervação centrífuga para o NC origina-se no lemnisco lateral, colículo inferior, formação reticular e, principalmente, no complexo olivar superior. Algumas das fibras deste complexo são ramos do feixe olivococlear (FOC). O FOC foi amplamente discutido na introdução, onde se salienta sua influência no sistema auditivo periférico. Provavelmente o FOC atua como o principal elo entre o SNC e o controle da entrada de informação auditiva. O FOC modula a atividade no NC

através de alguns ramos que emite em seu trajeto até a cóclea e indiretamente, através de sua ação na cóclea.

Um dado interessante observado foi a diferença significativa entre as respostas de um mesmo neurônio do NC em duas vigílias. Isto poderia representar a influência do estado do SNC ( diferentes estados atencionais, habituação e desabituação) que pode de alguma maneira modificar as respostas embora dentro do mesmo estágio do ciclo. Outra possibilidade seria a localização de cada período de vigília dentro do ciclo sono-vigília. Seria importante, em experimentos futuros, a análise das respostas de um mesmo neurônio em várias vigílias, vinculando-as à seqüência dos distintos estágios do ciclo, isto é, antes ou depois de um sono lento, entre dois sono lentos, ou após um sono paradoxal.

Os resultados destes experimentos demonstram as influências centrais através das variações na descarga neuronal do NC e na forma dos histogramas, isto é, na probabilidade de descarga no tempo. Isto poderia significar uma modificação no código utilizado por esse neurônio em determinado estado do SNC, ou seria uma maneira diferente de codificar a informação dependente do estado central do sistema? Há outras hipóteses para justificar esses resultados, como uma possível redistribuição da informação auditiva (Whitfield, 1984), ou até mesmo uma seleção de informações sonodependente. Ainda não se dispõe de informação suficiente para levantar hipóteses de como o SNC modula a informação aferente auditiva dependente do seu estado de alerta, muito

embora essa modulação já tenha sido amplamente demonstrada e seja indiscutível.

Todos esses resultados aportam novos dados sobre o controle central do influxo sensorial auditivo, e de que forma esse controle é modulado pelos diferentes estados comportamentais do animal de experimentação, como o sono e a vigília.

O conhecimento do código utilizado para processamento de informações no NC é de extrema importância para o desenvolvimento de próteses auditivas, já que o NC pode ser utilizado como um local para a implantação dessas próteses em casos clínicos de lesões severas do receptor e do nervo auditivo.

## 6. CONCLUSÃO

A análise da atividade unitária do NC, em resposta a um estímulo sonoro à FC do neurônio registrado, durante os diferentes estágios do ciclo sono-vigília, em cobaias, revelou que:

1. Houve grande variabilidade das respostas dos neurônios, o que confirma a complexidade anatômica e fisiológica desse núcleo.

2. A atividade unitária do NC, representada pelos histogramas pós-estímulo, foi vinculada ao sono. Observou-se predominantemente aumento do número de espículas durante o SL em relação à V, aumento das respostas durante SP em relação ao SL e não alteração ou aumento da resposta no SP em relação à V.

3. As respostas de um mesmo neurônio do NC apresentaram diferenças significativas em vigílias distintas.

4. Houve alteração na forma dos histogramas o que pode refletir uma modificação no código utilizado por esse neurônio, uma maneira diferente de codificar a informação dependente do estado atual do SNC, uma redistribuição da informação ou até mesmo uma seleção de informações dependente do sono.

Esses resultados permitem concluir que o sistema nervoso central (SNC) provoca efeitos modulatórios diferenciados sobre a atividade unitária do núcleo coclear (NC) dependendo do estado comportamental do animal.

## 7. RESUMO

A grande maioria dos sistemas sensoriais estudados sofrem modificações durante o ciclo sono-vigília, entre eles o sistema auditivo em vários níveis.

Partindo da hipótese de que o sistema auditivo é o sistema que nos mantém relacionados com o meio ambiente durante o sono, o objetivo deste trabalho foi verificar se o SNC também modifica os potenciais registrados no NC de forma diferente durante o sono e vigília.

Utilizaram-se 34 cobaias, que foram submetidas à implantação cirúrgica de elétrodos para registro de sono e um tubo de polietileno no ouvido médio para estimulação sonora. Nas sessões de registro foi reproduzida a posição estereotáxica através de duas barras metálicas transversais fixadas ao acrílico e introduzida uma micropipeta com um eletrodo de registro no NC. Sob estimulação sonora, foi realizado o registro extracelular da atividade unitária do NC nas diferentes etapas do ciclo sono-vigília, em cobaias não anestesiadas.

Comparando os valores obtidos durante sono lento (SL) e vigília (V), verificou-se que em 22,7% das unidades registradas não houve alteração na atividade do NC, em 50% os valores em SL foram significativamente maiores do que os obtidos em V e em 27,3% os valores em SL foram menores do que os em V. Comparando SL e SP (sono paradoxal) observou-se que em 30% das unidades não houve variação, em 50% os valores de SP foram maiores do que os de SL e em 20% foram menores. Entre V e SP não houve alteração em 40% das unidades, enquanto em

outros 40% os valores de SP foram maiores do que os de V e em 20% foram menores.

Os resultados permitem concluir que a ação do SNC provoca efeitos modulatórios diferenciados sobre a atividade unitária do NC dependendo do estado comportamental do animal. Com um "influxo" sensorial auditivo constante, essa atividade torna-se dependente do estado do SNC.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J.C. and WARR, W.B. (1976). Origins of axons in the cats acoustic striae determined by injection of horseradish peroxidase into severed tracts. *J. Comp. Neurol.*, 170: 107-122.

ALTMAN, I.A. (1960). Electrophysiological examination of different parts of the auditory systems in the cat during sustained rhythmical stimulation. *Sechenov. Physiol. J. URSS*, 46: 617-629.

ARDUINI, A. (1962). Differences in cortical activity during desynchronized sleep and arousal. *Proc. Int. Union Physiol. Sci. XXII Congr. Leiden.*, 1: 464-466.

BAUST, W., BERLUCCHI, G. and MORUZZI, G. (1964). Changes the auditory input in wakefulness and during the synchronized and desynchronized states of sleep. *Arch. Ital. Biol.*, 102: 657-674.

BRAWER, J.R., MOREST, D.K. and KANE, E.C. (1974). The neuronal architecture of the cochlear nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.*, 155: 251-299.

BUÑO, W., VELLUTI, R., HANDLER, P. and GARCÍA-AUSTT, E. (1966). Neural control of the cochlear input in the wakeful free guinea-pig. *Physiol. Behav.*, 1: 23-35.

BUÑO, W. and GARCÍA-AUSTT, E. (1970). Effect of electrical stimulation of the olivocochlear bundle at the cochlear level. *Acta Neurol. Latinoamer.*, 16: 125-138.

BORG, E. (1971). Efferent inhibition of afferent acoustic

- activity in the unanaesthetised rabbit. *Exp. Neurol.*, 31: 301-312.
- BUSHNELL, M.C., GOLDENBERG, M.E. and ROBINSON, D.L. (1981). Behavioral enhancement of visual responses in monkey cerebral cortex. I. Modulation in posterior parietal cortex related to selective visual attention. *J. Neurophysiol.*, 46: 755-772.
- CANT, N.B. and MOREST, D.K. (1978). Axons from non-cochlear sources in the anteroventral cochlear nucleus of the cat. A study with the rapid Golgi method. *Neuroscience*, 3: 1003-1029.
- CAPPS, M.J. and ADES, H.W. (1968). Auditory Frequency Discrimination after Transection of the Olivocochlear Bundle in Squirrel Monkeys. *Exp. Neurol.*, 21: 147-158.
- CASPARY, D.M. (1968). The cytoarchitecture of the cochlear nucleus of the kangaroo rat. *Masters thesis*, Laboratory of Sensory Communications and Zoology Department, Syracuse University, Syracuse, NY.
- CASPARY, D.M. (1972). Classification of subpopulations of neurons in the cochlear nuclei of the kangaroo rat. *Exp. Neurol.*, 37: 131-151.
- CASPARY, D.M. (1986). Cochlear Nuclei: Functional Neuropharmacology of the Principal Cell Types. In: *Neurobiology of Hearing: The Cochlea*. Ed. R.A. Altschuler, D.W. Hoffman, and R.P. Bobbin. Raven Press, New York.
- CODY, A.R. and JOHNSTONE, B.M. (1982). Temporary threshold shift modified by binaural acoustic stimulation. *Hearing Res.*, 6: 199-205.
- COMIS, S.D. (1970). Centrifugal inhibitory processes affecting

- neurones in the cat cochlear nucleus. *J. Physiol. (Lond.)*, 210: 751-760.
- COMIS, S.D. and WHITFIELD, I.C. (1967). Centrifugal excitation and inhibition in the cochlear nucleus. *J. Physiol., London*, 188: 34-35P.
- COMIS, S.D. and WHITFIELD, I.C. (1968). Influence of centrifugal pathways on unit activity in the cochlear nucleus. *J. Neurophysiol.*, 31: 62-68.
- CRISPINO, L. (1983). Modification of responses from specific sensory systems in midbrain by cerebellar stimulation: experiments on a teleost fish. *J. Neurophysiol.*, 49: 3-15.
- DEMENT, W. (1958). The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioral sleep in the cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 10: 291-296.
- DESMEDT, J.E. (1960). Neurophysiological mechanisms controlling acoustic input. In: *Neural Mechanisms of the Auditory and Vestibular Systems*, edited by G. L. Rasmussen and W. F. Windle. Springfield, III.: Thomas, chapt. 11.
- DESMEDT, J.E. (1962). Auditory-evoked potentials from cochlea to cortex as influenced by activation of the efferent olivo-cochlear bundle. *J. Acoustic. Soc. Am.*, 34: 1478.
- DESMEDT, J.E. (1975). Physiological studies of the efferent recurrent auditory system. In: *Handbook of Sensory Physiology*. vol 5/2. Eds. W.D. Keidel and W.D. Neff; pp. 219-246. Springer, Berlin.
- DEWSON, J.H. (1968). Efferent olivocochlear bundle: some

- relationships to stimulus discrimination in noise. *J. Neurophysiol.*, 31: 122-130.
- ELVERLAND, H.H. (1977). Descending connections between the superior olivary and cochlear nucleus complexes in the cat studied by autoradiographic and horseradish peroxidase methods. *Exp. Brain Res.*, 27: 397-412.
- EVANS, E.F. (1977). Frequency selectivity at high signal levels of single units in cochlear nerve and nucleus. In: *Psychophysics and Physiology of Hearing*. Eds: E.F. Evans and J.P. Wilson., pp. 185-192. Academic Press, New York and London.
- EVANS, E.F. and NELSON, P.G. (1973a). The responses of single neurones in the cochlear nucleus of the cat as a function of their location and anaesthetic state. *Exp. Brain Res.*, 17: 402-427.
- EVANS, E.F. and PALMER, A.R. (1975). Responses of single units in the cochlear nerve and nucleus of the cat to signals in the presence of bandstop noise. *J. Physiol. (Lond.)*, 252: 60-62P.
- EVARTS, E.V. (1962). Activity in neurons in visual cortex of the cats during sleep with low voltage fast EEG activity. *J. Neurophysiol.*, 25: 812-816.
- FEX, J. (1959). Augmentation of the cochlear microphonics by stimulation of efferent fibres to cochlea. *Acta Otolaryngol.*, 50: 540-541.
- FEX, J. (1962). Auditory activity in centrifugal and centripetal cochlear fibers in cat. A study of a feedback system. *Acta Physiol. Scand.*, 189 (suppl.): 1-68.

- GALAMBOS, R. (1956). Suppression of auditory nerve activity by stimulation of efferent fibers to cochlea. *Neurophysiol.*, 19: 424-437.
- GALAMBOS, R.; SHEATZ, G. and VERNIER, V.G. (1956). Electrophysiological Correlates of a Conditioned Response in Cats. *Science*, 123: 376-377.
- GLATTKE, T.J. (1969). Unit responses of the cat cochlear nucleus to amplitude-modulated stimuli. *J. Acoust. Soc. Am.*, 45: 419-425.
- GODFREY, D.A., KIANG, N.Y.-S., and NORRIS, B.E. (1975). Single unit activity in the dorsal cochlear nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.*, 162: 247-268.
- GOLDBERG, J.M. and BROWNELL, W.E. (1973). Discharge characteristics of neurons in anteroventral and dorsal cochlear nuclei of cat. *Brain Res.*, 64: 35-54.
- GRANIT, R. (1955). Centrifugal and antidromic effects on ganglion cells of retina. *J. Neurophysiol.*, 18: 388-411.
- GREEN, J.D. and ARDUINI, A.A. (1954). Hippocampal electrical activity in arousal. *J. Neurophysiol.*, 17: 403-420.
- GREENWOOD, D.D. and MARUYAMA, N. (1965). Excitatory and inhibitory response areas of auditory neurons in the cochlear nucleus. *J. Neurophysiol.*, 28: 863-892.
- GREENWOOD, D.D. and GOLDBERG, J.M. (1970). Response of neurons in the cochlear nuclei to variations in noise bandwidths and to tone-noise combinations. *J. Acoust. Soc. Am.*, 47: 1002-1040.
- HALASZ, P. and UJSZASZI, J. (1988). A study of K-complexes in

humans: are they related to information processing during sleep? *Sleep* 86. Eds. Koella, W.P.; Obál, F.; Schulz, H. and Visser, P. pp. 79-83. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York.

HARTLINE, H.K.; WAGNER, H.G. and TOMITA, T. (1953). Mutual inhibition among the receptors of the eye of *Limulus*. *Abstr. XIX Int. Physiol. Congr.*, p. 441.

HELD, G. (1893). Die centrale Gehörleitung. *Arch. Anat. Physiol. Anat. Abt.*, pp. 201-248.

HERNÁNDEZ-PEÓN, R. and SCHERRER, H. (1955). Habituation to acoustic stimuli in cochlear nucleus. *Fed. Proc. Fedn. Am. Socs. Exp. Biol.*, 14: 71.

HERNÁNDEZ-PEÓN, R.; SCHERRER, H. and JOUVET, M. (1956). Modification of electric activity in cochlear nucleus during "attention" in unanesthetised cats. *Science*, 123: 331-332.

HERZ, A. (1965). Cortical and subcortical auditory evoked potentials during wakefulness and sleep in the cat. In: *Sleep Mechanisms. Progress in brain research*. Eds. Akert, K.; Bally, C. and Schadé, J.P., 18: 63-69. Elsevier Publishing Company.

IRVINE, D.R.F.; WEBSTER, W.R. and SACK, K.H. (1970). Effects of repetitive stimulation and state of arousal on cochlear potentials. *Expl. Neurol.*, 29: 16-30.

IRVINE, D.R.F. and WEBSTER, W.R. (1972). Arousal effects on cochlear potentials: investigation of a two-factor hypothesis. *Brain Res.*, 39: 109-119.

JOHNSTONE, B.M.; PATUZZI, R. and YATES, G.K. (1986). Basilar

- membrane measurements and the travelling wave. *Hear. Res.*, 22: 147-153.
- JOUVET, M. (1967). Neurophysiology of the states of sleep. *Physiol. Rev.*, 47: 117-177.
- JOUVET, M.; ASTIC, D. and LACOTE, D. (1969). Ontogenesis of the States of Sleep in Rat, Cat, and Guinea Pig during the First Postnatal Month. *Developmental Psychobiology*, 2(4): 216-239.
- KANE, E.S.C. (1977). Descending inputs to the octopus cell area of the cat cochlear nucleus: An electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.*, 173: 337-354.
- KANE, E.S.C., and CONLEE, J.W. (1979). Descending inputs to the caudal cochlear nucleus of the cat: Degeneration and autoradiographic studies. *J. Comp. Neurol.*, 187: 759-783.
- KERR, D.I.B. and HAGBARTH, K.E. (1955). An investigation of olfactory centrifugal fiber system. *J. Neurophysiol.*, 18: 362-374.
- KIANG, N.Y.-S.; WATANABE, T.; THOMAS, E.C. and CLARK, L.F. (1965). Discharge Patterns of Single Fibers in the Cats Auditory Nerve. (Res. Monogr. no. 35) M.I.T. Press, Cambridge.
- KOERBER, K.C.; PFEIFFER, R.R.; WARR, W.B. and KIANG, N.Y.-S. (1966). Spontaneous Spike Discharges from Single Units in the Cochlear Nucleus after Destruction of the Cochlea. *Exp. Neurol.*, 16: 119-130.
- LIVINGSTON, R.B. (1959). Central control of receptors and sensory transmission systems. In: *Handbook of Physiology*. Sec I. Neurophysiol. Vol. I. Ed: J. Field, pp. 741-760. Am.

Physiol. Soc. Bethesda.

LORENTE DE NÓ, R. (1933). Anatomy of the eighth nerve. III. General plan of structure of the primary cochlear nuclei. *Laryngoscope*, 43: 327-350.

LORENTE DE NÓ, R. (1981). In: *The Primary Acoustic Nuclei*, Raven Press, New York.

LUPARELLO, T.J. (1967). *Stereotaxic atlas of the Guinea Pig*. Ed: Williams and Wilkins Company. Baltimore.

MAST, T.E. (1970). Binaural interaction and contralateral inhibition in dorsal cochlear nucleus of the chinchilla. *J. Neurophysiol.*, 33: 108-115.

MAST, T.E. (1973). Dorsal cochlear nucleus of the chinchilla: excitation by contralateral sound. *Brain Res.*, 62: 61-70.

MOLLER, A.R. (1978). Coding of time-varying sounds in the cochlear nucleus. *Audiology*, 17: 446-468.

ORNITZ, E.M.; RITVO, E.R.; CARR, E.M.; PANMAN, B.A. and WALTER, R.D. (1967). The variability of the auditory averaged evoked response during sleep and dreaming in children and adults. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 22: 514-524.

ORNITZ, E.M.; RITVO, E.R.; LEE, Y.H.; PANMAN, L.M.; WALTER, R.D. and MASON, A. (1969). The auditory evoked response in babies during REM sleep. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 27: 195-198.

OSEN, K.K. (1969). Cytoarchitecture of the cochlear nuclei in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 136: 453-484.

OSEN, K.K. (1970). Course and termination of the primary afferents in the cochlear nuclei of the cat. An experimental

- study. Arch. Ital. Biol., 108: 21-51.
- PEDEMONTE, M. and VELLUTI, R. (1984). El sistema eferente y el influjo sensorial auditivo. Sueno lento, benzodiazepinas. Arch. Biol. Med. Exp., 17(2), R167.
- PEDEMONTE, M. and VELLUTI, R. (1987). Cochlear nucleus unit firing rate in waking, slow wave and paradoxical sleep. 5th Congress of Sleep Research. Copenhagen, Denmark. p. 021.
- PFEIFFER, R.R. (1966a). Classification of response patterns of spike discharges for units in the cochlear nucleus: tone-burst stimulation. Exp. Brain Res., 1: 220-235.
- PFEIFFER, R.R. (1966b). Anteroventral cochlear nucleus: wave forms of extracellularly recorded spike potentials. Science, 154: 667-668.
- PRETCH, W. and LLINAS, R. (1969). Comparative aspects of the vestibular input to the cerebellum. Neurobiology of cerebellar evolution and development. Proc. of the first Int. Symp. Ed. R. Llinas, pp. 677-702. Am. Med. Assoc. Education and Research Found. Chicago.
- RAJAN, R. and JOHNSTONE, B.M. (1983). Crossed cochlear influences on monoaural temporary threshold shifts. Hearing Res., 9: 279-294.
- RAMÓN y CAJAL, S. (1909). Histologie du Systeme Nerveux de l'Homme et des Vertébrés, Vol. I, Maloine, Paris.
- RAMÓN y CAJAL, S. (1911). Histologie du Systeme Nerveux de l'Homme et des Vertébrés, Vol. II, Maloine, Paris.
- RASMUSSEN, G.L. (1946). The olivary peduncle and others fibers projections to the superior olivary complex. J. Comp. Neurol.,

84: 141-220.

RASMUSSEN, G.L. (1960). Efferent fibers of the cochlear nerve and cochlear nucleus. In: *Mechanisms of the Auditory and Vestibular System*. Eds. G.L. Rasmussen and W.F. Windle. Thomas, Springfield. IL, pp. 105-115.

RASMUSSEN, G.L. (1967). Efferent connections of the cochlear nucleus. In: *Sensorineural Hearing Processes and Disorders*, ed. A.B. Graham, pp. 61-75. Little, Brown, Boston.

RHODE, W.S.; OERTEL, D., and SMITH, P.H. (1983). Physiological response properties of cells labeled intracellularly with horseradish peroxidase in cat ventral cochlear nucleus. *J. Comp. Neurol.*, 213: 448-463.

ROSE, J.E.; GALAMBOS, R. and HUGHES, J.R. (1959). Microelectrode studies of the cochlear nuclei of the cat. *Bull. Johns. Hopkins Hosp.*, 104: 211-251.

ROSE, J.E.; GALAMBOS, R. and HUGHES, J.R. (1960). Organization of frequency sensitive neurons in the cochlear nuclear complex of the cat. In: *Neural Mechanisms of the Auditory and Vestibular Systems*. Eds. G.L. Rasmussen and W.F. Windle, pp. 116-136. Thomas, Springfield.

SOHMER, H. (1966). A comparison of the efferent effects of the homolateral and contralateral olivocochlear bundles. *Acta Otolaryng.*, 62: 74-87.

STARR, A. and WERNICK, J.S. (1968). Olivocochlear bundle stimulation: effects on spontaneous and tone-evoked activities of single units in cat cochlear nucleus. *J. Neurophysiol.*, 31: 549-564.

- STARR, A., and BRITT, R. (1970). Intracellular recordings from the cat cochlear nucleus during tone stimulation. *J. Neurophysiol.*, 33: 137-147.
- TOENNIES, J.F. (1939). Conditioning of afferent impulses by reflex discharges over the dorsal roots. *J. Neurophysiol.*, 2: 515-525.
- VELLUTI, R. and GARCÍA-AUSTT, E. (1969). Variaciones de los potenciales cocleares del cobayo durante el ciclo vigilia-sueno rápido. IX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas, Brasil., 205-206.
- VELLUTI, R.; PEDEMONTE, M. and GARCÍA-AUSTT, E. (1989). Correlative changes of auditory nerve and microphonic potentials throughout sleep. *Hearing Res.*, 39: 203-208.
- VELLUTI, R., PEDEMONTE, M., PEÑA, J.L., RIBEIRO, M.F. (1990). Sleep phases and unit firing probability at the cochlear nucleus. 10th Congress of the European Sleep Research Society, Strasbourg, 1990.
- VOIGHT, H.F. and YOUNG, E.D. (1980). Evidence for inhibitory interactions between neurons in dorsal cochlear nucleus. *J. Neurophysiol.*, 44: 76-96.
- WARR, W.B. (1978). The olivocochlear bundle: its origins and terminations in the cat. *Evoked Electrical Activity in the Auditory Nervous System*. Ed. R.F. Nauton and C. Fernández., pp. 43-63. Academic Press, New York and London.
- WINSLOW, R.L. and SACHS, M.B. (1987). Effect of electrical stimulation of the crossed olivocochlear bundle on auditory nerve response to tones in noise. *J. Neurophysiol.*, 57:

1002-1021.

WHITFIELD, I.C. (1984). **Neurocommunication: An Introduction.**  
John Wiley and Sons, Chichester.

YOUNG, E.D. and BROWNELL, W.E. (1976). Responses to tones and  
noise of single cells in dorsal cochlear nucleus of  
unanesthetized cats. *J. Neurophysiol.*, 39: 282-300.