

A stylized, colorful illustration featuring several human faces in profile, overlapping each other. The faces are rendered in various colors like yellow, orange, and red. Surrounding the faces are various scientific and geometric symbols, including cubes, cylinders, and spheres, some in shades of blue and green. The overall style is graphic and modern.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA IZTAPALAPA
POSGRADO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL
ÁREA DE NEUROCIENCIAS**

**EFFECTO DE FÁRMACOS ANTIHISTAMINÉRGICOS
SOBRE LA ESTRUCTURA DEL PATRÓN DE SUEÑO
Y SUS VARIACIONES CIRCÁDICAS.**

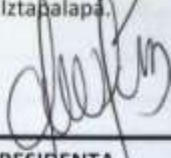
**Tesis para obtener el grado de Doctor
en Biología Experimental**

MBRA. José Angel Rojas Zamorano

**Tutor: DR. JAVIER VELÁZQUEZ MOCTEZUMA.
Asesora: DRA. ANABEL JIMÉNEZ ANGUIANO
Asesor: DR. LEÓN CINTRA MCGLONE
Sinodal: DR. RUBÉN ROMÁN RAMOS
Sinodal: DR. ANDRÉS QUINTANAR STEPHANO**

16 de abril 2009

Los miembros del jurado de examen designados por el Posgrado en Biología Experimental abajo firmantes, aprobaron la tesis "EFECTO DE FÁRMACOS ANTIHISTAMINÉRGICOS SOBRE LA ESTRUCTURA DEL PATRÓN DE SUEÑO Y SUS VARIACIONES CIRCÁDICAS" realizada por el estudiante José Angel Rojas Zamorano. La disertación pública se efectuó el día 16 de abril de 2009, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana IztaPalapa.



PRESIDENTA

Dra. Anabel Jiménez Anguiano
Departamento de Biología de la Reproducción
Universidad Autónoma Metropolitana IztaPalapa



SECRETARIO

Dra. Mina Königsberg Fainstein
Departamento de Ciencias de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana IztaPalapa



VOCAL

Dr. León Cintra McGlone
Instituto de Neurobiología Institución
Universidad Nacional Autónoma de México



VOCAL

Dr. Andrés Quintanar Stephano
Departamento de Fisiología y Farmacología
Centro de Ciencias Básicas
Universidad Autónoma de Aguascalientes

ÍNDICE

RECONOCIMIENTOS	5
LISTA DE ABREVIATURAS UTILIZADAS	6
RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	10
La Histamina es un autacoide pero también un neurotransmisor.....	10
El Sistema Histaminérgico tiene ritmo circadiano.	13
El Sistema Histaminérgico participa en la regulación del ciclo sueño-vigilia.	14
El Sistema Histaminérgico es modulador del reloj biológico.	15
Los antihistamínicos H1 modifican el patrón de sueño.	19
El estrés por inmovilización y la privación de sueño, modifican el patrón del dormir.....	27
MARCO TEÓRICO.....	31
Antecedentes	31
Hipótesis.....	32
Objetivos	32
Objetivo General:	32
Objetivos Específicos:.....	32
MATERIAL Y MÉTODOS	33
Animales.....	33
Procedimiento quirúrgico para la implantación de electrodos	33
Fármacos	34
Registros PSG	34
EXPERIMENTO I: Efectos de la terfenamida (TFA) y clorfeniramina (CFA) sobre la estructura del patrón de sueño y sus variaciones circádicas.....	36
EXPERIMENTO II: Efectos del EI y la CFA sobre el patrón de sueño, y sus variaciones circádicas.....	36
EXPERIMENTO III: Efectos de la PSSP y la CFA sobre el patrón de sueño.	36
Análisis estadístico	37
Formación de los grupos experimentales.....	38
RESULTADOS	39
EXPERIMENTO I. Efectos de la terfenamida (TFA) y clorfeniramina (CFA) sobre la estructura del patrón de sueño y sus variaciones circádicas.	39
EXPERIMENTO II. Efectos del EI y la CFA sobre el patrón de sueño, y sus variaciones circádicas.....	41

EXPERIMENTO III. Efectos de la PSSP y la CFA sobre el patrón de sueño.	43
<i>Efectos de la PSSP por 24 horas y la CFA sobre el patrón de sueño</i>	44
<i>Efecto de la CFA y la PSSP por 48 horas, sobre patrón de sueño</i>	46
DISCUSIÓN	47
Los antihistamínicos tienen diferente capacidad para atravesar a la Barrera Hemato- Encefálica.	48
Efecto circadiano en la sensibilidad a los antihistamínicos.	49
Papel del la CFA como inductor de somnolencia (o activador del SNC)	49
Efecto sobre el Sueño de Ondas Lentas.	51
Efecto de la CFA sobre el Sueño de Movimientos Oculares Rápidos.....	52
CONCLUSIONES	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54

RECONOCIMIENTOS

Los resultados de este proyecto de investigación fueron posibles gracias:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de la beca 193082, gracias al programa PNP-CONACyT-SEP clave C/PFPN-2002-35-32, que tiene signado con el Posgrado en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

Al Área de Neurociencias de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, a sus recursos físicos y humanos. Al Dr. Javier Velázquez Moctezuma *vis vitalis* del área, por su imprescindible dirección e infaltable apoyo. A la imponderable ayuda y asesoría de la Dra. Anabel Jiménez Anguiano. Al conveniente cúmulo de enseñanzas y consejos impartidos por sus investigadores: Dr. Armando Ferreira Nuño, Dra. Adriana Morales Otal, Dr. Mario García Lorenzana, Dr. Rosario Tarragó Castellanos y BE. Enrique Esqueda León. Al trabajo compartido con mis compañeros, que forman una lista interminable, nombrar a algunos de ellos y omitir por equivocación a otros sería injusto, mi solidaridad y empatía con ellos. A la asesoría y crítica constructiva a este trabajo por parte de: Dr. León Cintra McGlone, Dr. Rubén Román Ramos, Dr. Andrés Quintanar Stephano y Dr. Edmundo Bonilla González. Mi eterna gratitud para ellos, y mi solidaridad con sus metas, me siento perpetuamente miembro de sus equipos y colaborador incondicional de ellos.

Al apoyo que nos brindó el Programa de Posgrado en Biología Experimental.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por medio de la Dirección de Asuntos del Personal Académico que a través del Programa de Apoyo a la Superación del Personal Académico, que aportó los recursos económicos, gracias a los cuales, fue posible la comisión con goce de sueldo, para poder realizar los estudios de doctorado.

A las jefaturas de las carreras en las que laboro en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza: Química Farmacéutico Biológica e Ingeniería Química. Las facilidades que me otorgaron fueron incondicionales, estratégicas y convenientes.

Y por supuesto, a mi familia (que incluye a mis hijos, nietas, hermanos y Soco) y desde luego, a mis amigos, por la infinita paciencia, comprensión y auxilio de las que fui objeto.

LISTA DE ABREVIATURAS UTILIZADAS

AH1	Antagonistas a los receptores histaminérgicos H1 o Antihistamínicos H1
AH1NS	Antihistamínicos H1 no sedantes o de segunda generación.
AH1S	Antihistamínicos H1 sedantes o de primera generación.
APVLH	Área Preóptica Ventro Lateral Hipotalámica
BHE	Barrera Hemato-Encefálica
CFA	Clorfeniramina
EEG	Electroencefalográfico
EHHS	Eje Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenales
EI	Estrés por Inmovilización
EMG	Electromiográfico
FESZ	Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
H1, H2, H3, H4	Receptores afines a la Histamina
HA	Histamina
HDC	Histidina descarboxilasa
HMT	Histamina metiltransferasa
icv	Intra-cerebro-ventricular
NPV	Núcleo hipotalámico Para Ventricular
NSQ	Núcleo hipotalámico Supra Quiasmático
NTM	Núcleo hipotalámico Tubero-Mamilar
PSG	Polisomnográfico
PSSP	Privación Selectiva de Sueño Paradójico
R- α -MeHA	R α -metil histamina
SH	Sistema Histaminérgico

SMOR	Sueño de Movimientos Oculares Rápidos
SNC	Sistema Nervioso Central
SNMOR	Sueño sin movimientos oculares Rápidos
SOL	Sueño de Ondas Lentas
SOL I	Sueño de Ondas Lentas I o Sueño Ligero
SOL II	Sueño de Ondas Lentas II o Sueño Profundo
SP	Sueño paradójico
TFA	Terfenadina
UAMI	Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
V	Vigilia
α -FMH	α -fluorometil histamina
2 TEA	2-tiazolil etilamina
2,4-MeHA	2,4-dimetil histamina

RESUMEN

Las funciones de la histamina (HA) como neurotransmisor en el sistema nervioso central (SNC) y como mediador de la respuesta inflamatoria están bien establecidas. En el SNC, el sistema histaminérgico (SH) lo conforman: **a)** Los somas de las neuronas histaminérgicas que se encuentran en el núcleo hipotalámico tuberomamilar (NTM); **b)** Las proyecciones que parten del NTM de manera difusa a prácticamente todo el sistema nervioso; **c)** Los cuatro receptores específicos a la HA (H1, H2, H3 Y H4); tres de ellos son integrantes del SH en el SNC. La actividad histaminérgica puede ser influida farmacológicamente, por la acción de agonistas o antagonistas a sus receptores, o por la operación de aquellos que afecten la actividad de las enzimas que sintetizan o degradan a la HA.

El SH tiene ritmos circadianos y ultradianos, su actividad es diferente en distintos momentos del ciclo sueño-vigilia, sus neuronas, por ejemplo, tienen diferentes velocidades de disparo, desde una gran frecuencia durante la vigilia activa, menor en la vigilia quieta, mucho menor en el sueño ligero, hasta ser prácticamente silentes durante el sueño profundo y el sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) o sueño paradójico (SP). El SH tiene un ritmo circadiano que se refleja, además de la frecuencia de disparo mencionada, en la variación de las concentraciones de HA y sus metabolitos en el SNC, en diferentes momentos del ciclo luz-oscuridad. Alterar la actividad del SH del SNC, causa una consecuente modificación en el patrón de sueño del individuo, hecho que se hizo evidente desde que se utilizaron a los antihistamínicos en la práctica médica, especialmente aquellos que fueron descritos como sedantes. Los antihistamínicos, antagonistas de los receptores H1 (AH1), debido a que atraviesan a la barrera hemato-encefálica, son capaces de modificar la arquitectura del sueño, sin embargo los resultados de sus efectos sobre el periodo de vigilia, han sido controversiales; en tanto que algunos estudios sugieren que actúan como inductores de somnolencia, otros proponen que su acción puede estimular al SNC, efecto que puede causar la activación del sistema de vigilia. La mayoría de las investigaciones coincide en que la etapa más vulnerable del ciclo sueño-vigilia que puede sufrir los efectos de los antihistamínicos, es el SMOR, el efecto de los AH1 conlleva a una disminución de esta etapa de sueño. Por otra parte, diferentes estudios han sugerido que el SH es un modulador del principal reloj biológico el hipotalámico núcleo supraquiasmático, que es la principal estructura que coordina los ritmos circadianos.

El SP sufre modificaciones cuando se somete al sujeto a condiciones de estrés (por ejemplo el inducido en la rata por inmovilización) o privación de sueño, en ambas situaciones se produce un incremento en la cantidad de esta etapa, que en el caso de la privación selectiva de SP (PSSP), se le reconoce como “rebote de sueño”.

En el presente trabajo se establecieron los siguientes objetivos: **1)** Determinar si los AH1 no sedantes (AH1NS), afectan el ciclo sueño-vigilia. **2)** Estudiar si la sensibilidad de los AH1 sedantes (AH1S) sobre el patrón de sueño, tiene ritmo circadiano. **3)** Determinar si el incremento en el SP causado por la PSSP y/o el estrés por inmovilización, pueden ser modificados por la acción de un AH1S.

El trabajo experimental se hizo por medio de estudios polisomnográficos, en ratas machos de la cepa Wistar, que para tal fin, contaron con implantes colocados *ex profeso*. Para ello se dividió a los animales en tres grupos experimentales: Al grupo 1 se evaluó la acción un AH1S y un AH1NS sobre el patrón de sueño en diferentes momentos del ciclo luz-oscuridad. Al grupo 2 se sujetó a estrés por inmovilización (EI), seguido de la administración de un AH1S, en sendos periodos del ciclo luz-oscuridad. Al grupo 3 se sometió a PSSP, seguida de la aplicación de un AH1S.

Los resultados revelaron que: **1)** El AH1NS no produjo alteraciones en el patrón de sueño. **2)** El efecto del AH1S sobre la arquitectura de sueño, fue diferente en los dos periodos del ciclo luz-oscuridad; la etapa más afectada fue el SP, que disminuyó en ambos. **3)** El rebote de sueño causado por el estrés por inmovilización, fue anulada por efecto del AH1S y el cambio en el patrón de sueño, dependió del momento del ciclo luz-oscuridad en el que se evaluó. **4)** El AH1S se comportó como un estimulante del SNC, al incrementar la cantidad de vigilia, especialmente en el periodo en el que el animal presenta menos actividad, (el luminoso).

Concluimos que: **1)** El antihistamínico no sedante, no afecta el patrón de sueño; **2)** La sensibilidad al antihistamínico sedante sobre el patrón de sueño, tiene ritmo circadiano, hecho que también fue observado cuando los animales fueron sometidos a estrés por inmovilización; **3)** El antihistamínico sedante tuvo un efecto activador sobre el sistema nervioso, hecho que se reflejó en un incremento en el porcentaje de vigilia, especialmente en el periodo de luz. **4)** Que el SMOR es la etapa más vulnerable a ser afectada por la acción del antihistamínico, ya que causó su disminución en ambos periodos del ciclo luz oscuridad y además fue anulado el incremento de SMOR que comúnmente se esperan como consecuencia del EI y la PSSP.

INTRODUCCIÓN

La Histamina es un autacoide pero también un neurotransmisor.

La Histamina (HA) es un versátil mensajero químico, protagonista esencial de dos procesos fisiológicos: es un autacoide que participa en el disparo de la respuesta inflamatoria en los tejidos periféricos, y es también un neurotransmisor en el Sistema Nervioso Central (SNC). La HA es un agonista competitivo, que actúa sobre cuatro posibles receptores metabotrópicos (H1, H2, H3 y H4). Los tres primeros se localizan en la periferia, y el cuarto especialmente en las células cebadas (mastocitos y basófilos) [Ash AS, 1966, Black JW, 1972, Arrang JM, 1953, Hill SJ 1997, Schlicker BC, 1988, 1989, 1991, 1992, 1993, 1995, 1996, Hofstra CL, 2003].

El interés en el presente trabajo, se circunscribe en la interacción de los receptores H1, H2 y H3 en el SNC. La figura 1 muestra un ejemplo de esta interacción en el SNC, en ella se resumen los efectos de la HA sobre estos receptores en el control de la vigilia [Prell GD, 1986, Schwartz JC, 1991, Hill SJ, 1997, Brown RE, 2001, Golightly LK, 2005, Mammoto T, 1997, Lin JS, 2000].

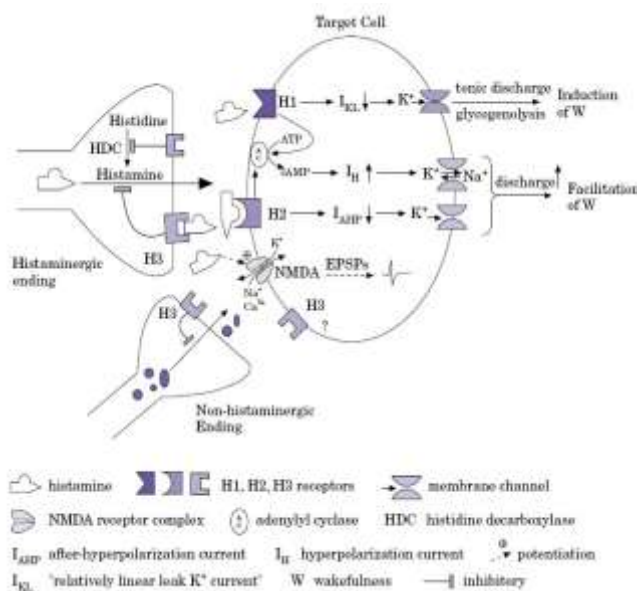


Figura 1. Mecanismo propuesto por el autor del artículo, relaciona la respuesta celular ante la acción de la HA sobre sus receptores, para explicar el mecanismo inductor y facilitador de la vigilia (W). Como se observa, la activación de los receptores H1 y H2, induce en la célula una acción estimulante, provocando su despolarización. En tanto que el H3, receptor presináptico, inhibe la acción de la enzima que la sintetiza a partir de un aminoácido, la histidina descarboxilasa (HDC). Como puede verse, la acción inhibitoria del H3 sobre la liberación de la HA, afecta además a otros neurotransmisores.

El esquema además revela que, la HA es afín además a los receptores ionotrópicos glutamatérgicos NMDA. Tomado de: Lin JS. *Sleep Med Rev.* 2000 Oct; 4(5): 471-503.

La HA también es sintetizada, almacenada y liberada por los mastocitos y basófilos. Cuando estas células cebadas sensibilizadas, son activadas por la acción de un antígeno específico, la HA y otros autacoides son liberados causando diversos efectos relacionados con la respuesta inflamatoria y de hipersensibilidad inmunológica (alergias) como son: la vasodilatación capilar y el incremento de la permeabilidad vascular, la constricción de los bronquios, y la menor viscosidad de moco secretado por las células caliciformes del aparato respiratorio (Figura 2) [Golightly LK, 2005].

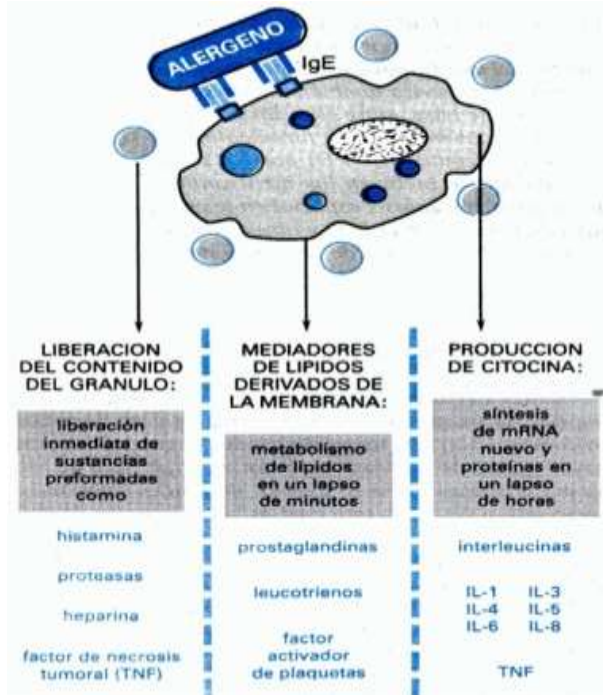


Figura 2. La HA no es el único autacoide liberado por las células cebadas, la respuesta fisiológica asociada a la inflamación, es el resultado de muchos mensajeros químicos producidos por ellas. La HA es uno de los causantes de las respuestas inmediatas de la inflamación. Tomado de: **Douglas, WW. Autacoids. En Brunton LL, Lazo JS, Parker KL (editores). Goodman & Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 11a. edición, McGraw-Hill / Interamericana, Madrid, 2007.**

En la figura 3, se describen los pasos más importantes en la biosíntesis y el metabolismo de la HA. Este mensajero químico se sintetiza, tanto en basófilos, mastocitos y neuronas, a partir de la L-histidina por la acción de la enzima histidina descarboxilasa (HDC). Cuando se libera, actúa sobre cuatro de sus receptores. La inactivación de la HA, ocurre por la acción de la enzima histamina metiltransferasa (HMT), que la transforma en el metabolito inactivo *2,4 dimetil histamina (2,4-MeHA)*.

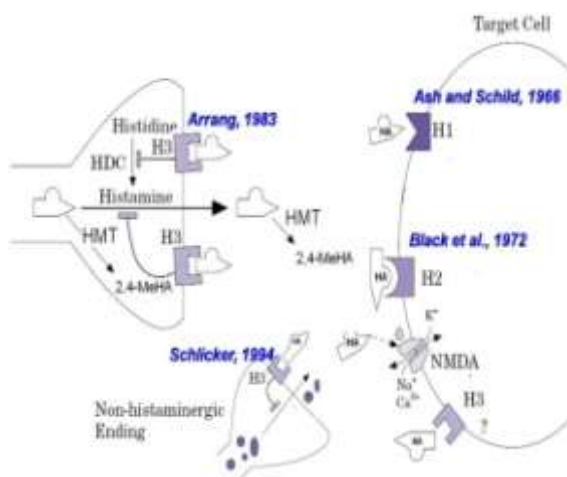


Figura 3. La degradación de la HA liberada por la neurona, puede ocurrir intracelularmente o en el espacio sináptico, en ambos casos, por la acción de la HMT, para transformarla en *2,4-dimetil histamina (2,4 MeHA)*. En este esquema, además se resume, en cuanto a los receptores histaminérgicos, el nombre del investigador que lo descubrió y el año de publicación del hallazgo. Esquema modificado del original, tomado de: **Lin JS. Sleep Med Rev. 2000 Oct; 4(5): 471-503. Y de Hill SJ, et al. Pharmacol Rev. 1997 Sep; 49(3):253-78.**

La HA es también un neurotransmisor, producido y almacenado en vesículas sinápticas de neuronas cuyos somas se localizan en la región hipotalámica posterior, específicamente en el núcleo tuberomamilar (NTM). Desde aquí, parten proyecciones, principalmente amielínicas, a prácticamente todo el SNC.

Este sistema no es privativo en el ser humano, se han identificado sistemas histaminérgicos equivalentes en diversas especies animales como el gato, cobayo, rana, rata, ratón y humano (figura 4).

La mayor densidad de fibras histaminérgicas se localiza en la mitad ventral del hipotálamo posterior; sobre los núcleos hipotalámicos supraquiasmático (NSQ) y el paraventricular (NPV) El NTM recibe aferencias de núcleos mesencefálicos y diencefálicos a través de fibras monoaminérgicas, orexinérgicas y gabaérgicas, entre otras más [Schwartz JC, 1991, Hill SJ, 1997, Haas H, 2003].

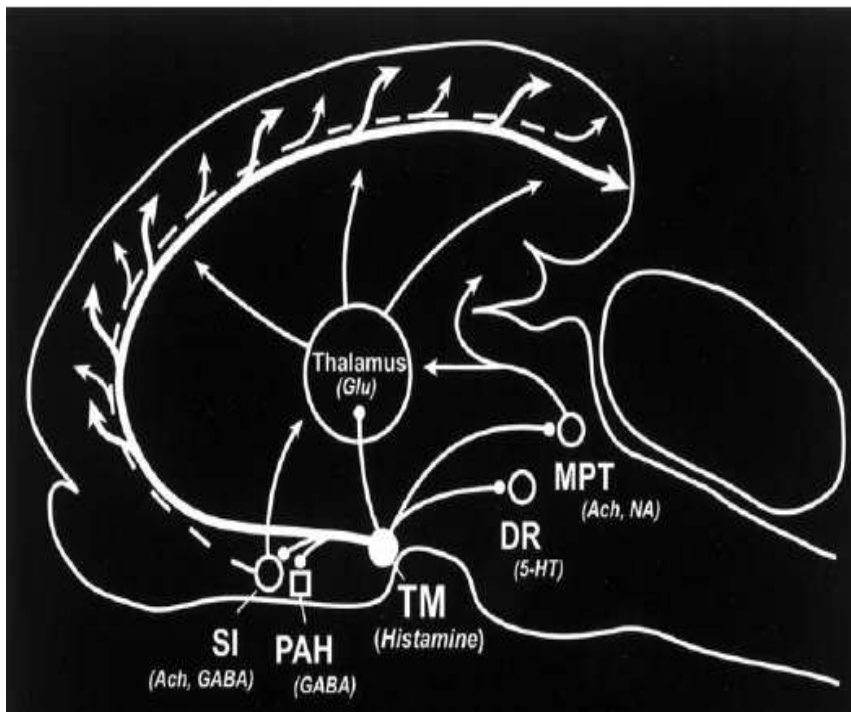


Figura 4. El esquema representa una vista sagital del cerebro de gato. En él se observan las principales vías ascendentes y descendentes de las neuronas histaminérgicas, sus cuerpos celulares están localizados en el núcleo Tuberomamilar (TM) del hipotálamo posterior, y que proyectan hacia las principales estructuras de las que se conoce su importancia en el control

del ciclo sueño-vigilia. Como los colinérgicos Tegmento Meso-pontino (MPT) y Sustancia Innominata (SI); los gabaérgicos del Área Preóptica Hipotalámica (PAH) el serotoninérgico Rafe Dorsal (DR), el noradrenérgico MPT, y los glutamatérgicos del Tálamo (Thalamus). Tomado de **Lin JS. Sleep Med Rev. 2000 Oct; 4(5): 471-503.**

Además de la HA neuronal, en el SNC existen al menos tres fuentes de esta sustancia; los mastocitos del SNC, la glía y las células endoteliales. Aunque la función de la HA en los mastocitos cerebrales no se conoce bien, se ha sugerido que tienen una participación importante en el control vascular cerebral, en la regulación de la respuesta inmune y las reacciones inflamatorias. Se ha demostrado en estas células no neuronales, la presencia de HA, receptores histaminérgicos y enzimas relacionadas con el metabolismo de la HA [Fernández-Novoa L, 2001].

La acción del SH puede ser estimulada o inhibida por diferentes estrategias farmacológicas, por ejemplo, promoviendo la acción de las enzimas que participan en su metabolismo (biosíntesis y degradación); activando o bloqueando a los receptores histamínicos, por la acción de agonistas o antagonistas específicos. En la figura 5, se resumen tales estrategias [Watanabe T, 2001].

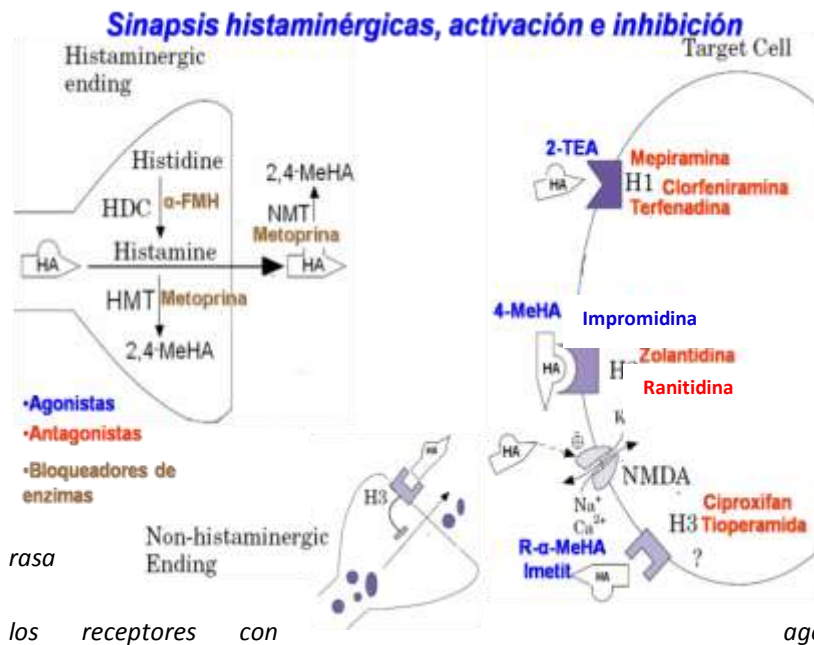


Figura 5. La actividad del SH puede ser modificada por diferentes estrategias farmacológicas **A.** inhibiendo la actividad enzimática de la HDC en la síntesis de HA, por ejemplo aplicando α -fluoro metilhistamina (α -FMH). **B.** Inhibiendo el catabolismo de la HA, al bloquear a la enzima histamina metiltransferasa (HMT), por la acción de la metoprina. **C.** Activando a agonistas específicos: a los H1 con la 2-tiazoliletilamina (2.TEA); a los H2 con 4-metil histamina (4.MeHA) o la impromidina; los H3 con R- α -metil histamina (R- α -MeHA). **D.** Bloqueando la acción de la HA y compitiendo con ella, al utilizar antagonistas específicos a los receptores H1 (clorfeniramina, terfenadina y mepiramina), a los H2 (ranitidina y zolantadina), o a los H3 (ciproxifan y tioperamida) Esquema modificado del original, tomado de: Lin JS. *Sleep Med Rev.* 2000 Oct; 4(5): 471-503. Y de Hill SJ, et al. *Pharmacol Rev.* 1997 Sep; 49(3):253-78.

El Sistema Histamínico tiene ritmo circadiano.

Un cúmulo de evidencias ha establecido que la mayoría de las respuestas, tanto fisiológicas como conductuales, que tienen un ritmo circadiano, son reguladas por el marcapaso interno localizado en el núcleo supraquiasmático hipotalámico (NSQ). El reloj circadiano localizado en ese núcleo, provee la sincronización con el ciclo luz-oscuridad ambiental, y es esencial en el control del ciclo sueño-vigilia [Miller DB, 2006].

Existen evidencias de que la actividad del NSQ es modulada por el NTM, este núcleo histamínico posee actividad intrínseca espontánea que tiene variaciones durante el ciclo sueño-vigilia. La frecuencia de disparo de las neuronas histamínicas es máxima durante la vigilia activa, menor en la vigilia quieta, y disminuirá paulatinamente durante el sueño de ondas lentas (SOL) o sueño sin movimientos oculares rápidos (SNMOR), en la medida que transcurre desde el sueño ligero al profundo.

La actividad del NTM, es prácticamente silente durante el SNMOR profundo y durante el sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) que se conoce también como sueño paradójico (SP). Se ha propuesto que la inhibición del NTM es producida por la inervación gabaérgica proveniente del área preóptica ventrolateral hipotalámica (APVLH) que muestra una gran actividad durante el SOL [Vanni-Mercier G, 1984, Monti JM, 1993, Haas H, 2003, Lin JS, 1990, Brown RE, 2001, Okakura-Mochizuki K, 1996].

El Sistema Histaminérgico participa en la regulación del ciclo sueño-vigilia.

En el sueño se repiten ciclos SNMOR-SMOR, que deben ser regulados en intensidad y duración a fin de que respondan a la necesidad homeostática de la función del sueño y que deben expresarse en el periodo adecuado del ciclo luz-oscuridad. Como antes se mencionó, la actividad de las neuronas histaminérgicas, está en estrecha relación con las etapas del ciclo sueño-vigilia: con una mayor frecuencia de disparo durante la vigilia y en la medida que transcurren las etapas de sueño, desde el sueño ligero hasta el SMOR, la actividad disminuye paulatinamente hasta hacerse silente. El ciclo sueño-vigilia está regulado esencialmente por tres procesos: A. *El homeostático*, que determina la propensión de sueño y está en función de la magnitud de la vigilia previa, entre más tiempo el sujeto esté despierto mayor será su propensión a dormir. B. *El Circadiano*, regulado por el reloj interno y modulado por el ciclo luz-oscuridad. C. *El Ultradiano*, en el que subyacen los mecanismos que regulan el cambio SMOR-SNMOR durante el transcurso del sueño (figura 6) [Borbély A, 1989].

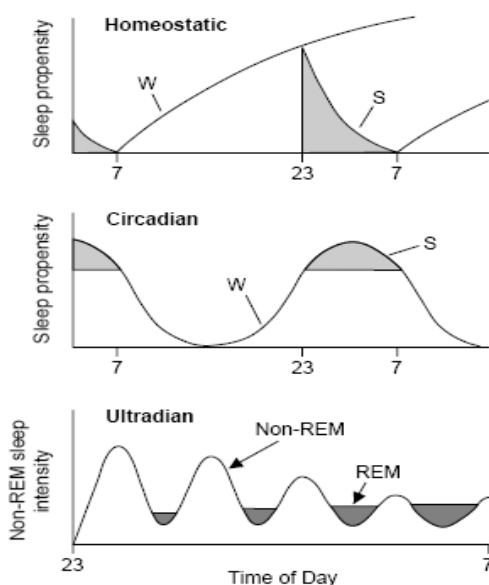


Figura 6. El esquema muestra los tres principales procesos involucrados en la regulación del sueño. El homeostático mantiene la duración y la intensidad del sueño. El Circadiano determina el periodo de la propensión a dormir, en función del ciclo luz-oscuridad. El Ultradiano regula los mecanismos que requiere el sueño para el ciclo SMOR-SNMOR. En la medida que el episodio de sueño progresa, la intensidad del SNMOR disminuye e incrementa la duración de los sucesivos intervalos de SMOR. (S = sueño; W = vigilia; Non-REM: sueño de ondas lentas; REM = sueño paradójico o SMOR). Tomado de: **HUMAN FRONTIER. WORKSHOP VIII. THE REGULATION OF SLEEP.** Borbély AA, • Hayaishi O, Sejnowski TJ, Altman JS. Editors. **HUMAN FRONTIER**

SCIENCE PROGRAM, Bureaux Europe. 2000; VOL.8 APRIL, pp. 8.

Cuando se altera la actividad del SH, se perturba el ciclo sueño-vigilia. La inhibición de la síntesis de HA, incrementa el SOL y decrece la V en gatos y en otras especies, mientras que la acumulación de HA incrementa la V en el individuo [Schwartz JC, 1991]. La aplicación de agonistas H1, ya sea *intra-cerebro-ventricular* (*icv*) o bien administrados directamente en diferentes sitios del encéfalo, incrementa la vigilia y disminuyen al sueño profundo, causan una desincronización de la actividad electroencefalográfica (EEG), la activación tiene una evidente relación con la dosis aplicada [Monti JM, 1993, Lin JS, 2000]. El efecto alertante que causa la tioperamida (un agonista H1) puede ser bloqueado por antagonistas de los receptores H1 (AH1), que se les conoce como antihistamínicos, tales como la mepiramina, la clorfeniramina (CFA) y la terfenadina (TFA). Estos resultados indican que los receptores H1 del SNC, participan en la inducción y facilitación de la vigilia (figura 1) [Lin JS, 2000].

En otro experimento, a un grupo de ratas, se les privó selectivamente la fase de sueño paradójico (PSSP), utilizando el método de la plataforma simple, por 72 horas; se concluyó que los individuos experimentales tuvieron un decremento en el metabolismo de HA en el hipotálamo anterior [Porkka-Heiskanen T, 1994].

Diferentes estudios hechos con antagonistas H2 concluyen que estos agentes no afectaron al ciclo sueño-vigilia [Monti JM, 1993, Bárbara, A, 2002]. Tomadas juntas, todas estas evidencias indican que la HA endógena y el SH (por medio de la activación de los receptores H1), están estrechamente relacionados con la V, y que los cambios que puedan provocarse sobre la actividad del SH, alteran el ciclo sueño-vigilia.

El Sistema Histaminérgico es modulador del reloj biológico.

Diversos estudios han involucrado al SH en la regulación del ritmo circadiano de los mamíferos, modulando la actividad del NSQ y del ciclo sueño-vigilia. Por ejemplo, en la rata, la aplicación *icv* de HA indujo un cambio de fase en el ritmo circadiano de la actividad locomotora, de forma similar al que provoca la luz, en el ciclo luz-oscuridad. El grupo de Jacobs, propuso el mecanismo de modulación que ejerce el SH sobre el NSQ (figura 7) [Cote NK, 1993, Abe H, 2004, Jacobs EH, 2000].

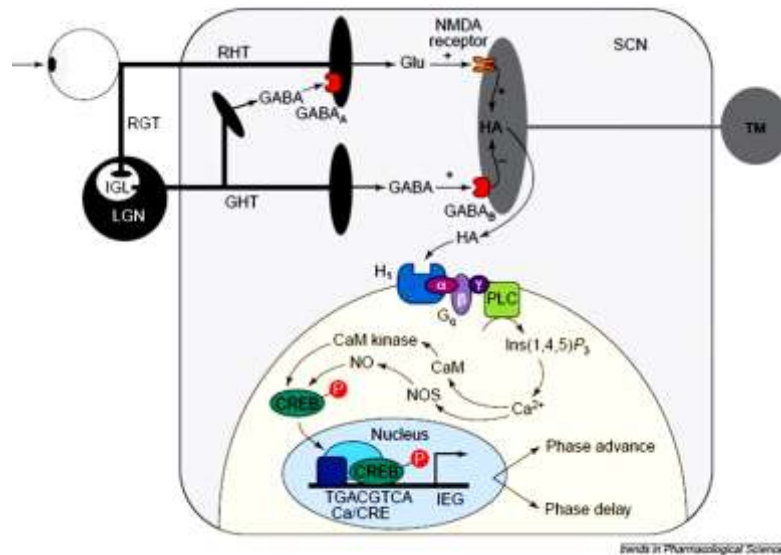


Figura 7. El esquema muestra uno de los modelos propuesto, que pretenden explicar cómo ocurre la modulación al núcleo supraquiasmático (SCN) para ajustar al ritmo circadiano adelantándolo o retrasándolo, por la acción de la histamina (HA). La liberación de HA por el núcleo tuberomamilar (TM) hacia el SCN, puede ser estimulada por la acción glutamatérgica del tracto retino-hipotalámico (RHT), o inhibida por la gabaérgica del tracto geniculohipotalámico (GHT). Como se observa, la activación gabaérgica inhibirá tanto a la glutamatérgico del RHT como a la histaminérgica del TM. En la parte inferior del esquema, se describe que, una vez que se presenta la estimulación histaminérgica, la cascada de respuestas ocurre por vía de segundos mensajeros, que activan al elemento proteico enlazante (CREB) que viajará al núcleo celular e iniciará la expresión de los genes específicos (IEG), que causarán el avance o retraso de fase del ritmo circadiano. Tomado de: **Jacobs EH, et al. Is histamine the final neurotransmitter in the entrainment of circadian rhythms in mammals? Trends in Pharmacol Sci. 2000; 21: 293-8.**

La inyección *icv* causa un cambio permanente en el ritmo circadiano de la rata cuando se aplica durante la noche subjetiva del sujeto, pero no cuando se aplica durante el día subjetivo, es decir, el cambio en la fase, en cuanto a su dirección y magnitud, depende del momento y la fase del ciclo luz-oscuridad en el que sea aplicado [Itowi N. 1990, 1991].

En diferentes estudios, se ha demostrado que la liberación de HA tiene un ritmo circadiano, por ejemplo, el pico de secreción coincide con la actividad locomotora máxima y este nivel disminuirá paulatinamente, desde el decremento de esta actividad, hasta la aparición del sueño [Friedman AH, 1968, 1969, Mochizuki T, 1992]. Se ha publicado además, que en ratas con libre movilidad, la liberación de HA en las regiones hipotálamicas anterior y posterior (estructuras involucradas en la regulación del sueño y la vigilia), tiene un ritmo circadiano [Mochizuki T, 1992]. En otro estudio que se realizó en grupo de niños, se encontró que durante el periodo de vigilia, la enzima metil transferasa (que degrada a la HA), tuvo la mayor actividad, durante esta etapa se presentó nivel del metabolito tele-metil histamina (2,4-MeHA) en el líquido céfalo-raquídeo del grupo de niños analizado [Kiviranta T, 1994, 1995].

La correlación entre la liberación de HA con la actividad locomotora, en condiciones de oscuridad constante, reveló que la liberación, por sí misma es un regulador de las señales endógenas relacionadas con el reloj circadiano, más que los cambios en la iluminación a las que se sometió al grupo experimental [Mochizuki T, 1992, Tuomisto L, 2001, Stehle J, 1991, Prast H, 1992]. Las proyecciones de las fibras histaminérgicas desde el NTM, llegan a diferentes regiones del encéfalo, entre las que sobresalen el NSQ, la glándula pineal, algunos componentes del sistema visual, y otras regiones que se sabe que actúan como marcapasos secundarios ligados al NSQ [Panula P, 1989].

La actividad de las células del NSQ parece estar regulada por la HA a través de los receptores H1 y H2 [Liou SY, 1983, Stehle J, 1991]. La administración *icv* de agonistas H1, incrementan la V a expensas del SOL y el SMOR, efectos que pueden bloquearse con la administración de antagonistas a los receptores H1 (AH1), en tanto que la inhibición de la actividad parece ser mediada por los receptores H2 del NSQ [Liou SY, 1983]. El papel crucial de los receptores H1 en la regulación del ritmo circadiano de la actividad locomotora, se confirmó en ratones mutantes carentes de estos receptores. Los animales tuvieron un ritmo circadiano más corto, similar al que se puede inducir en animales intactos, si se les aplica α -FMH, fármaco que bloquea a la HDC inhibiendo la síntesis de HA (figura 11) [Doi T, 1994, Inoue I, 1996, Yanai K, 1998]. En la rata, la infusión sostenida de α -FMH en el tercer ventrículo, alteró los ciclos luz-oscuridad relacionados con las conductas de alimentación, ingesta de líquidos y ambulatoria. Por otra parte, la infusión de CFA, produjo en el animal un aumento en la ingesta de alimento, sin afectar las conductas de bebida y de actividad ambulatoria. En tanto que los antagonistas H2 no afectaron. Los antagonistas H3 indujeron una disminución de la conducta alimenticia, pero sólo en el periodo de oscuridad. [Doi T, 1994]. Por otra parte, la administración de metoprina (inhibidor de la degradación de la HA), indujo en los animales en experimentación, la disminución del periodo

circadiano en la conducta de ingesta de alimentos, tanto en el periodo luminoso como el oscuro [Lecklin A, 1998]. Las coincidencias en experimentos hechos tanto *in vitro* como *in vivo* en relación de la influencia que puede ejercer el SH en el cambio de fase del ritmo circadiano, revelan que es un modulador de la actividad del reloj interno, el NSQ, a través de los receptores H1 de ese núcleo hipotalámico (figura 8) [Cote NK, 1993, Eaton SJ, 1995, Itowi N, 1990].

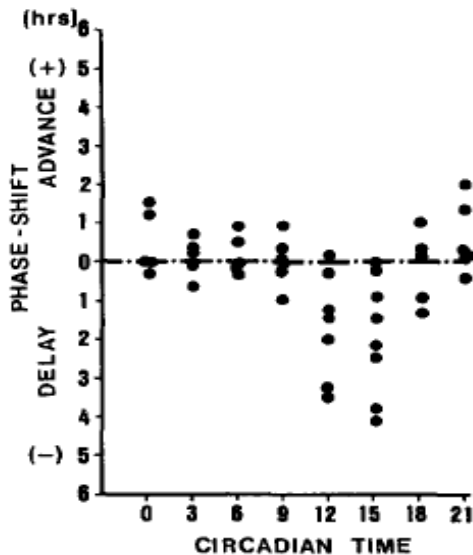


Figura 8. La gráfica presenta el efecto de la inyección icv. de HA en ratas macho. El efecto de avance o retraso de fase del ritmo circadiano, depende del momento del ciclo luz oscuridad en el que se aplique. Tomado de Itowi N, et al. *Effects of histamine and alpha-fluorome-thylhistidine injections on circadian phase of free-running rhythms.* *Physiol Behav.* 1990; 47(3): 549-54.

El ritmo circadiano de la actividad histaminérgica, se manifiesta no sólo en la actividad de las neuronas y el nivel de la HA y sus catabolitos, el papel protagónico de este autacoide como mediador en la respuesta inflamatoria y la hipersensibilidad alérgica también manifiesta ritmo circadiano [Golightly LK, 2005, Douglas, 2006, Polat C, 1980]. Existen evidencias de que en pacientes con procesos inflamatorios y/o procesos alérgicos activos, los signos y síntomas también presentan variaciones circadianas. Así, en pacientes que sufren de una rinitis infecciosa de origen viral, la nariz constipada, la frecuencia de accesos de estornudos y de tos, la rinorrea, son más prominente durante el día, especialmente durante las primeras horas que siguen al despertar, después del sueño nocturno [Michael H, 1995]. Estudios cronofarmacológicos revelaron que, el efecto de los AH1 para combatir los síntomas de la hipersensibilidad alérgica tiene ritmo circadiano. La efectividad del tratamiento farmacológico, la toxicidad y la farmacocinética varían en función de la hora de administración, presentan diferencias que dependen de la estación del año (variaciones circanuales) y la hora del día (variaciones circadianas) en que se administran. Asimismo, los efectos secundarios producidos por los AH1 son más importantes si se administran después de las primeras horas de la mañana que si hace durante la tarde (figura 9) [Reinberg A, 1966, 1969, Labrecque G, 1995, Dridi D, 2005a, 2005b].

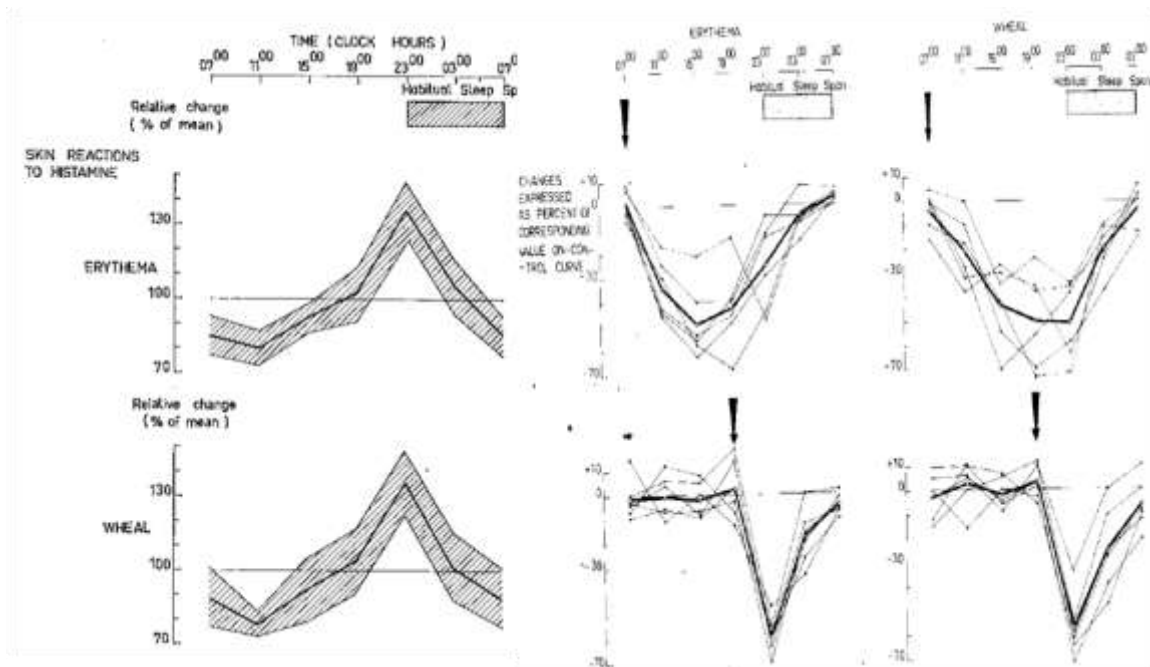


Figura 9. Ritmo circadiano de reacciones de la piel ocasionada por la inyección de HA (10 mg) a un grupo de 6 sujetos sanos. Los diagramas del lado izquierdo muestran que hubo un evidente aumento en la respuesta a la aplicación del fármaco a las 23:00 horas y mínima a las 11:00 (la gráfica superior izquierda corresponde al eritema formado y la inferior izquierda a la roncha). Las gráficas de la derecha muestran el efecto de la inhibición de la respuesta a la HA, causada por la aplicación de un AH1, la periactina, que se aplicó en una dosis simple de 4 mg aplicados a las 7:00 o a las 19:00 horas (momento señalados por las flechas); en ellas se advierte que el antihistamínico es más eficiente cuando se aplicó a las 19:00 horas, y la respuesta fue además más rápida, si se compara con la que se aplicó a las 7:00 horas. Tomado de: **Reinberg A and Sidi E. Circadian changes in the inhibitory effects of an antihistaminic drug in man. J Invest Dermatol. 1966 Apr; 46(4): 415-9.**

Todas estas evidencias, tanto fisiológicas como conductuales, apoyan el concepto de que el SH participa en la regulación del ritmo circadiano y de otras funciones periódicas como el ciclo sueño-vigilia [Eaton SJ, 1995].

Los antihistamínicos H1 modifican el patrón de sueño.

Desde el descubrimiento de la primera generación de antihistamínicos, antagonistas a los receptores histaminérgicos H1 (AH1), uno de sus efectos más importantes, además de su potencia terapéutica contra la inflamación, se hizo evidente en las reacciones secundarias que ellos producen.

Estos antihistamínicos que también se les conoce como “antihistamínicos clásicos” o “antihistamínicos sedantes” (AH1S), son capaces de afectar al SNC, porque pueden atravesar la barrera hemato-encefálica (BHE) y llegar así hasta los receptores H1 del SNC. Tal hecho es responsable de sus muy bien conocidos efectos sedantes: disminuyen el estado de alerta, enlentecen la respuesta psicomotriz y provocan la queja frecuente por parte del paciente de inducirle somnolencia [Sangalli BC, 1997, Slater JW, 1999].

Fueron precisamente esos efectos secundarios que evidenciaron que la HA tiene relevancia en el SNC, particularmente en el ciclo sueño-vigilia.

Uno de las primeras investigaciones en este sentido, se efectuó aplicando HA a conejos en los que se observó que tienen un importante efecto alertante, incluso se le nombró a la HA en ese estudio “la sustancia del alerta” [Monnier M, 1967, Friedman AH, 1968].

Diferentes evidencias, revelan que el sueño puede ser promovido farmacológicamente cuando se altera la transmisión central histaminérgica [Lin JS 2000]:

- a. Aplicando antagonistas a los receptores H1 (AH1) o agonistas a los H3.
- b. Inhibiendo la actividad de la HDC y disminuyendo así la síntesis de HA.
- c. Causando hiperpolarización del NTM con agonistas gabaérgicos.

Sin embargo, aunque el cúmulo de resultados lo sustentan, cuando se hicieron investigaciones en ratones mutantes, que o bien carecían de la HDC, o de los receptores H1, los resultados obtenidos fueron controversiales. Se observó que en ratones mutantes carentes de la enzima HDC, los sujetos no son capaces de mantenerse despiertos cuando una condición de alerta así lo requiere, como cuando se provoca un cambio en su medio ambiente; pero inexplicablemente su patrón de sueño revela que presentaron mayor cantidad de eventos de SMOR, como se observa en la figura 10 [Parmentier R, 2002]. Es precisamente en esta etapa de sueño, cuando el NTM es prácticamente silente, sin embargo, de acuerdo a estos resultados, la HA juega un papel inhibitor el SMOR. Por otra parte, en ratones mutantes carentes del receptor H1, el patrón de sueño es similar al de los animales control, la carencia de actividad histaminérgica mediada por los H1, no lo altera (figura 12) [Huang ZL, 2001 y 2006].

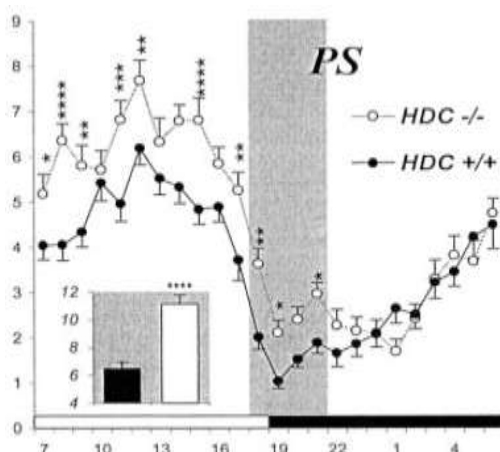


Figura 10. Sueño paradójico (PS) que presentaron los ratones intactos (HDC +/+ en círculos negros) y los ratones mutantes carentes de la enzima Histidina Descarboxilasa (HDC -/- en círculos blancos). La cantidad de SMOR producido por los mutantes es significativamente mayor que el de los controles. Tomado de: **Parmentier R, et al. Anatomical Physiological, and Pharmacological Characteristics of Histidine Decarboxylase Knock Out Mice: Evidence for the Role of Brain Histamine in Behavioral and Sleep-Wake Control. J Neurosci. 2002 Sep 1; 22(17): 7695-711.**

El ritmo circadiano de la conducta ambulatoria, mostró estar significativamente alterado en los ratones mutantes carentes de los receptores H1, cuando se les comparó con el expresado en animales control (figura 11). Los autores, a partir de estos resultados, concluyeron que la HA está involucrada en la regulación del ritmo circadiano de esta conducta, y en la inducción de esta actividad [Inoue, I, 1996].

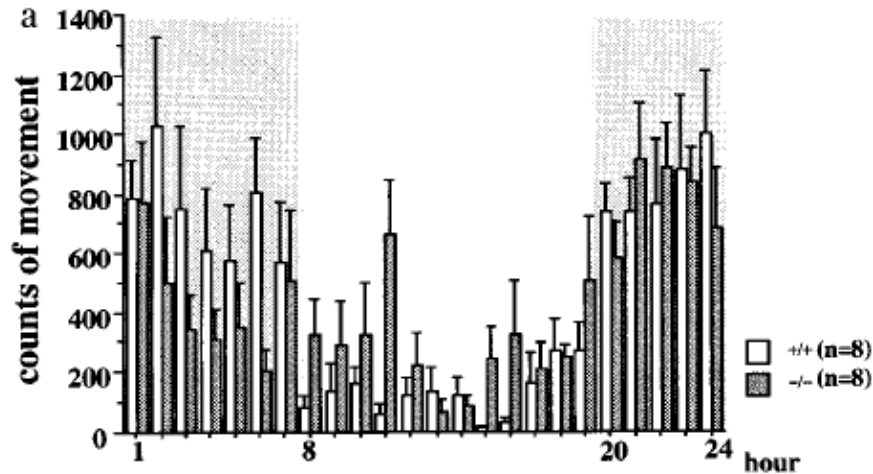


Figura 11. Las graficas muestran la actividad locomotora de los ratones mutantes carentes de receptores H1 (-/-) y de los controles (+/+). En ella se observa el registro del movimiento de los ratones, que realizaron cada hora durante dos días, en una jaula, bajo condiciones de 12 x

12 horas en el ciclo luz-oscuridad (n = 8). Las regiones sombreadas representan los periodos de oscuridad; se observa además que la actividad locomotora de los mutantes es irregular en el ciclo luz-oscuridad al comparársele con los controles. Tomado de: **Inoue I, et al. Impaired locomotor activity and exploratory behavior in mice lacking histamine H1 receptors. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 Nov 12; 93(23): 13316-20.**

Para aumentar la controversia, se observó que ratones mutantes carentes del receptor H1, tienen un patrón de sueño similar al de los animales control, y no responden de la misma manera a la aplicación de orexina, otro neurotransmisor que está estrechamente relacionado con la activación de la V, (figura 12) [Huang ZL, 2001 y 2006].

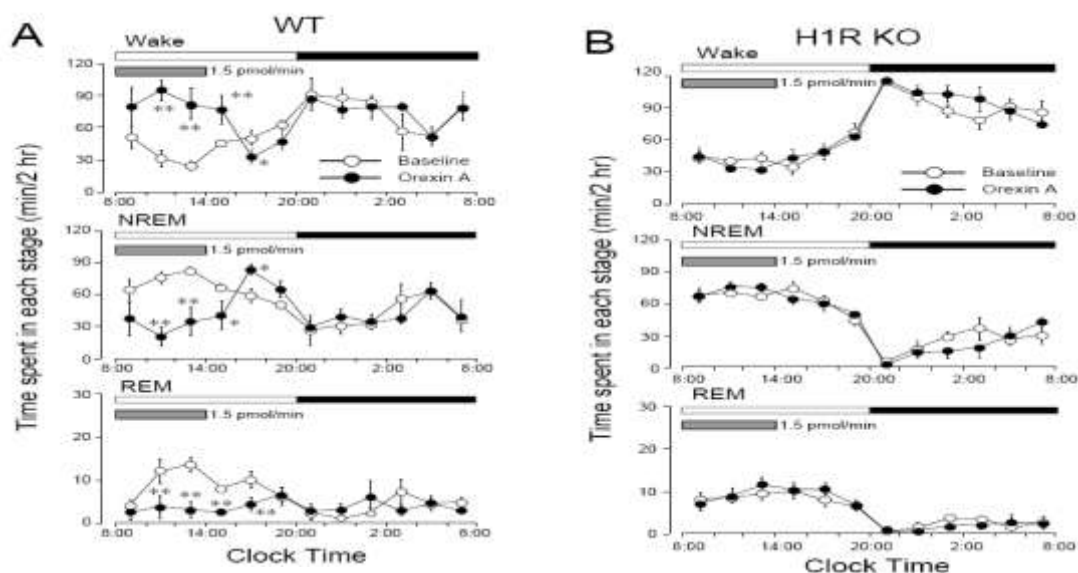


Figura 12. El esquema muestra la distribución de estadios del sueño, producidos por la infusión de orexina en el ventrículo late-ral, de ratones control (WT) y mutantes carentes de receptores H1 (H1R KO), entre las 8:00 y 14:00 horas locales, periodo señalado por la barra gris (localizada en la región superior izquierda de cada una de las gráficas). Cada círculo representa 2 horas de vigilia. Los círculos blancos corresponden a los animales control, en tanto que los negros, a los experimentales que se les aplicó la orexina, ya sea a los intactos (WT en el esquema A) o los mutantes (H1R KO en el esquema B). Los resultados muestran que los controles son reactivos a la aplicación de la orexina causándoles alteración en su patrón de sueño, efecto que no se advierte en los mutantes que además tienen un patrón de sueño similar al de los controles. Tomado de: **Huang ZL, et al. Arousal effect of orexin A depends on activation of the histaminergic system. Proc Natl Acad Sci USA. 2001; 98(17):9965-70.**

Los AH1 son antagonistas competitivos, afines a los receptores H1, no pueden prevenir la liberación de HA, ni se enlazan a la HA liberada. Ellos bloquean el efecto de la HA, reducen el prurito, disminuyen la permeabilidad vascular, y relajan el músculo liso de los tractos gastrointestinal y respiratorio. Algunos resultados experimentales señalan que estos agentes, especialmente los que se conocen como antihistamínicos sedantes (AH1S), producen una disminución en la rapidez de respuesta locomotora y cognitiva (efecto sedante). Este grupo de fármacos incluye a la clorfeniramina (CFA), la mepiramina y la bromofeniramina, entre otros más [Sangalli BC, 1997, Slater JW, 1999].

Basándose principalmente en resultados obtenidos por medio de pruebas subjetivas, que pretenden evaluar la magnitud de la disminución de la vigilia que percibe el paciente, como los cuestionarios que evalúan la percepción del paciente en cuanto a un posible trastorno del ciclo sueño-vigilia, se concluyó que estos fármacos pueden inducir somnolencia, de hecho, en la terapéutica actual, algunos estudios los recomendaron como auxiliares contra el insomnio ligero [Sangalli BC, 1997, Bender BG, 2003].

Pero existen pruebas de que algunos AH1S, son capaces de causar una acción estimulante al SNC. Por ejemplo, en un estudio en el que se midió el efecto de la CFA en sujetos sanos, por medio de la resonancia magnética nuclear, se concluyó que existe una relación entre la activación cerebral y la somnolencia inducida. Decreció en los sujetos experimentales, la capacidad para ejecutar diversas tareas. Sin embargo, este mismo estudio demostró que los sujetos somnolientos tuvieron un significativo incremento de la activación cerebral, durante la ejecución de actividades familiares, sin embargo, el efecto sedante inducido por el fármaco, interfirió la capacidad para ejecutarlas, especialmente si la tarea es compleja, como se muestra en la figura 13 [Okamura N, 2000].

Los antagonistas a los receptores H2, no son capaces de alterar el patrón de sueño [Monti JM, 1986].

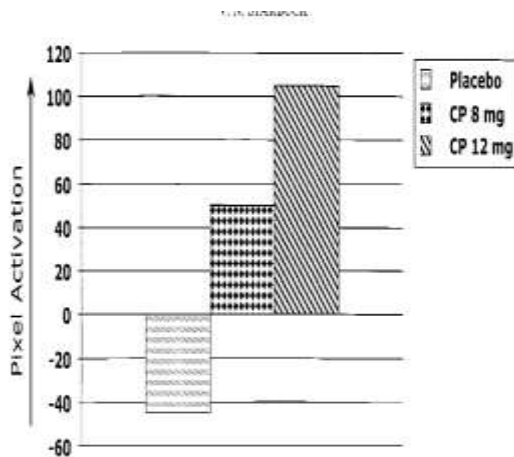


Figura 13. El diagrama muestra los cambios promedio de la activación cerebral de la región parietal-frontal del cerebro de los sujetos analizados, ellos recibieron ya sea placebo, o bien 8 mg o 12 mg de CFA. La activación cerebral inducida fue dependiente de la dosis. Tomado de: **Okamura N, et al. Functional neuroimaging of cognition impaired by a classical antihistamine, d-chlorpheniramine. Br J Pharmacol. 2000 Jan;129(1):115-23.**

En otro estudio realizado en sujetos sanos a los que se les suministró ya sea dos dosis por día, durante 7 días: de 10 mg de mequitacina o 12 mg de CFA o placebo, se concluyó que la CFA produjo una importante distorsión del sueño, enlenteció la actividad EEG del SMOR y disminuyó la cantidad de esta etapa, efecto que no se presentó con la mequitacina [Bassano JL, 1979].

Con la intención de disminuir los efectos secundarios de los AH1S, principalmente los relacionados con el efecto sedante, en la década 1980 se desarrollaron el grupo de fármacos llamados de segunda generación o “antihistamínicos no sedantes” (AH1NS). Ente estos, se encuentran la terfenadina (TFA), la cetirizina y el astemizol. Debido a su carácter menos hidrofóbico, a dosis terapéuticas, estos compuestos no atraviesan la BHE, por lo que al no poder interactuar con los receptores H1 del SNC, los efectos sedantes son mínimos [Sangalli BC, 1997, Slater JW, 1999, Golightly LK, 2005, Welch MJ, 2002].

En diferentes estudios se ha pretendido evaluar el efecto de los antihistamínicos sobre el SNC. En uno de ellos, el abordaje es subjetivo, se emprende por medio de cuestionarios que evalúan la calidad del estado de alerta o sueño; el otro (más objetivo) es por medio de registros polisomnográficos (PSG). Ambos estudios se han enfocado a medir: el grado de sedación. En tanto que las mediciones subjetivas se basan principalmente en la percepción y queja del paciente, en los registros PSG, pueden medirse los cambios en el EEG, la reducción de la latencia a sueño y disminución de la V que pudiera causar el AH1. Del cúmulo de evidencias se concluyó que los AH1NS:

- Tienen la misma potencia terapéutica contra los síntomas de la hipersensibilidad alérgica.
- Claramente producen menos efectos sedantes que los AH1S
- No están exentos de afectar el funcionamiento del SNC, a dosis terapéuticas los efectos son mínimos, en tanto que si la dosis aumenta, los efectos serán evidentes [Golightly LK, 2005].

Los agonistas y antagonistas a los receptores H1, son capaces de modificar el patrón de sueño. Los agonistas incrementan la V y decrecen el SOL, en tanto que los antagonistas (AH1) producen el efecto contrario [Monti JM, 1993, Lin JS 2000,]. Sin embargo, en cuanto a los AH1, existe controversia en cuanto a qué etapas de sueño son alteradas y en qué extensión. Por ejemplo, en un estudio se midió el poder sedante de la mizolastina y el astemizol, comparándolos con la TFA y la loratadina (todos ellos AH1NS) en conejos implantados para registro de EEG, se encontró que sólo la TFA y la loratadina causaron somnolencia. En tanto en las ratas, el astemizol, la loratadina y la TFA incrementaron el SOL, pero no la mizolastina y la cetirizina [Depoortere H, 1995]. En otra investigación en voluntarios sanos tratados con TFA, el EEG no mostró el enlentecimiento de las ondas que típicamente inducen los AH1S [Fink M, 1979].

En otro estudio, realizado en ratas, se evaluó por medio de registros EEG, el grado de somnolencia causado por los AH1S. Los resultados mostraron que todos los antihistamínicos probados, incrementaron el espectro de potencia del EEG en la banda de las ondas delta y theta. Los autores concluyen que en el efecto inhibitor de los AH1S, están involucrados tanto mecanismos colinérgicos como histaminérgicos [Kaneko Y, 2000]. Como se observa en la figura 14, las ratas tratadas con diferentes AH1S, tuvieron una significativa disminución en la latencia de sueño, en respuesta a la aplicación de difenhidramina, CFA y ciproheptadina [Tokunaga S, 2007].

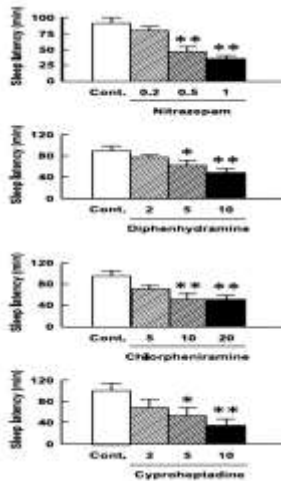


Table 2. Effects of nitrazepam and H₁-antagonists on the sleep-wake cycle in sleep-disturbed rats

Drugs	Dose (mg/kg)	Wake (min)	non-REM sleep (min)	REM sleep (min)
Nitrazepam	—	227.9 ± 6.9	127.4 ± 7.1	4.8 ± 1.0
	0.2	210.2 ± 6.8	145.0 ± 7.1	4.8 ± 1.2
	0.5	200.0 ± 7.4*	156.1 ± 7.0*	3.9 ± 1.2
	1	184.6 ± 6.1**	170.1 ± 6.0**	5.4 ± 0.7
Diphenhydramine	—	230.5 ± 7.5	119.0 ± 8.0	10.5 ± 2.8
	2	238.3 ± 6.2	113.8 ± 6.1	8.0 ± 1.8
	5	219.1 ± 8.8	133.5 ± 8.7	7.4 ± 1.8
	10	204.6 ± 9.7	144.8 ± 9.0	10.6 ± 1.9
Chlorpheniramine	—	218.7 ± 10.0	134.5 ± 10.0	6.8 ± 2.3
	5	198.9 ± 9.8	154.0 ± 9.9	7.0 ± 1.6
	10	215.0 ± 11.3	139.5 ± 11.3	5.6 ± 1.4
	20	220.5 ± 16.8	136.8 ± 17.0	2.8 ± 0.6
Cyproheptadine	—	245.4 ± 8.7	107.5 ± 8.2	7.0 ± 1.3
	2	218.0 ± 10.3	135.7 ± 10.2	6.3 ± 1.0
	5	183.9 ± 12.7**	159.6 ± 12.2**	16.5 ± 2.4**
	10	188.1 ± 8.0**	155.6 ± 6.8**	16.4 ± 2.3**

Each reported value is a mean ± S.E.M. (n = 8). Drugs were administered orally. *, **: Significantly different from the control group at P<0.05 and P<0.01, respectively.

Figura 14. Figura 12. Efecto del nitrazepam y los AH₁ sobre la latencia de sueño en ratas a las que se les suministraron los fármacos por vía oral (n = 8). Se advierte una disminución de la latencia de sueño en función de la dosis administrada, con los cuatro fármacos probados. En relación a los AH₁, de acuerdo a la tabla, no hubo diferencias significativas en el tiempo total de V y SNMOR con TFA y difenhidramina, en tanto que la ciproheptadina, causó un significativo decremento en el tiempo total de V y aumento en SNMOR y SMOR. Tomado de: Tokunaga S, et al. *Effects of some H₁-antagonists on the sleep-wake cycle in sleep-disturbed rats. J Pharmacol Sci. 2007 Feb; 103(2): 201-6. Epub 2007 Feb 8.*

En otra investigación en ratas, se evaluaron los efectos sedativo-hipnóticos de los AH₁S. En ésta se utilizaron los incrementos en los espectros de potencia de las bandas delta y theta del EEG como índice de sueño. Los resultados mostraron un decremento en la latencia a sueño y aumento en la duración total de sueño, así como una disminución en el SMOR. Los autores proponen que la secuencia en cuanto a la potencia de los AH₁S para inducir la reducción en la latencia a sueño, en orden descendente es: prometazina > clorfeniramina > difenhidramina > pirilamina. En tanto que para incrementar el tiempo de sueño: clorfeniramina > prometacina > difenhidramina > pirilamina. Y concluyeron que los AH₁S son efectivos contra el insomnio ligero o moderado por su poder hipnótico-sedante [Saitou K, 1999]. En otro estudio realizado en perros, se comparó el efecto los AH₁S con los AH₁NS (astemizol) sobre el patrón de sueño. Los resultados mostraron que el astemizol, no alteró el patrón de sueño, mientras que los AH₁S (CFA, difenhidramina, pirilamina y ketotifeno), si bien lo modifican, lo hacen de forma diferente: ninguno de ellos alteró significativamente el tiempo total de V; el SNMOR solo lo aumentaron el ketotifeno y la pirilamina; y todos los AH₁S disminuyeron significativamente al SMOR. En ninguno de los resultados, se hace mención de una disminución de la latencia a sueño, aunque sí se señala que existió un incremento en la latencia a SMOR (figura 15) [Wauquier A, 1981, Wauquier W, 1985].

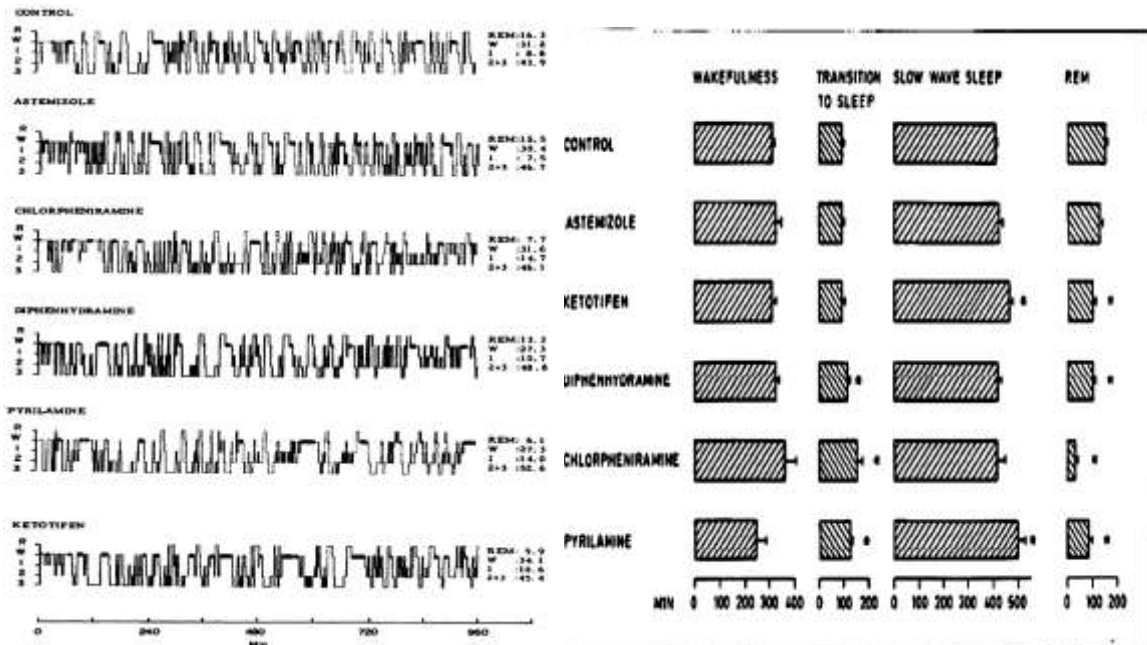


Figura 15. La figura izquierda, muestra el hipnograma de uno de los perros, después de la administración de una dosis 10 mg/kg por vía oral de cada uno de los AH1 estudiados; a la derecha del hipnograma se anotan los porcentajes de las diversas etapas de sueño (R = SMOR; W = vigilia; 1 = SOL ligero; 2, 3 = SOL profundo); la escala de la abscisa del hipnograma, corresponde al tiempo del registro de sueño. El diagrama de la derecha registra el tiempo de cada una de las etapas del sueño y la vigilia, para el grupo control y para los grupos experimentales, para cada AH1, después de la administración de 10 mg/kg por vía oral. Como se advierte de estos esquemas, el único AH1NS, el astemizol, no causó alteración en el patrón de sueño. En tanto que los AH1S, no causaron efecto sobre la vigilia, sólo la pirilamina y el ketotifeno causaron alteración en el SOL, y todos ellos disminuyeron con diferente intensidad al SMOR. Tomado de: *Wauquier A, et al. A comparison between astemizole and other antihistamines on sleep-wakefulness cycles in dogs. Neuropharmacology. 1981 Sep; 20 (9): 853-9.*

En una investigación en gatos, se compararon los cambios en los patrones de sueño midiéndolos por medio de las alteraciones observadas en sus EEG, cuando se aplicaron cuatro AH1NS (loratadina, astemizol, mequitazina y TFA) con los de un AH1S (difenhidramina). Los resultados mostraron que solo el AH1S afectó todas las etapas de sueño, especialmente redujo al SMOR e incrementó la somnolencia. Mientras que el astemizol alteró la conducta pero no modificó la actividad del EEG; la mequitazina aumentó la somnolencia y disminuyó tanto al SOL como al SMOR. La difenhidramina, y mequitazina, indujeron actividad subconvulsiva. La TFA no cambió el patrón de sueño y afectó a la conducta sólo levemente. Los autores concluyen que la etapa más sensible de ser afectada por la acción de los AH1 es el SMOR (figura 16) [Marzanatti M, 1989].

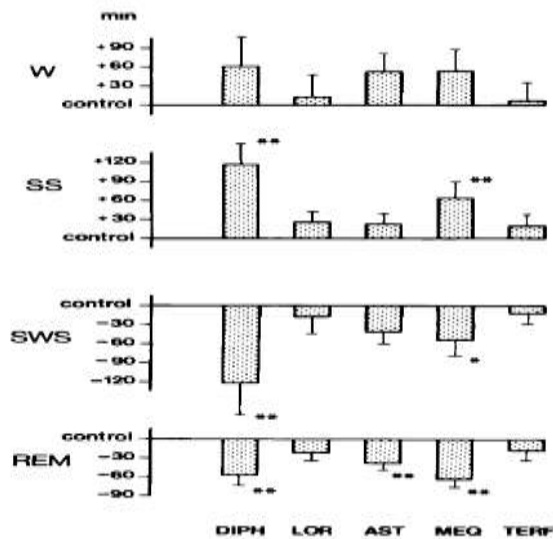


Figura 16. Efecto de algunos AH1 sobre la duración de las diferentes etapas del ciclo sueño-vigilia en un grupo de gatos ($n=10$). Las escalas de las ordenadas, representan las disminuciones o incrementos en los tiempos totales de las etapas correspondientes. La difenhidramina (DIPH) y la mequitazina (MEQ) fueron capaces de inducir somnolencia y disminuir al SOL. Sólo la Terfenadina (TERF) y la loratadina (LOR), no causaron disminución del sueño paradójico (REM), pero sí el astemizol (AST). Los fármacos LOR, AST, TERF, MEQ son AH1NS, y la DIPH es un AH1S. Tomado de: **Marzanatti M, et al. Effects of non-sedating histamine H1-antagonists on EEG activity and behavior in the cat. Pharmacol Biochem**

Behav. 1989 Apr; 32 (4): 861-6.

El estrés por inmovilización y la privación de sueño, modifican el patrón del dormir.

Numerosas evidencias describen que la duración en la calidad de las etapas de sueño, pueden ser afectadas por eventos que ocurran durante la V, por ejemplo, el estrés y la privación de sueño. La extensión con la que el ciclo sueño-vigilia es modificado por un estresor específico, puede ser un indicador de la magnitud o importancia de ese estresor, así como una medida del grado de activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenales (EHHS). La influencia del estrés sobre el sueño, ha sido el objetivo de un gran número de estudios, tanto en humanos como en animales de laboratorio. En uno de ellos, en el que un grupo de ratas fue sometido por dos horas a estrés por inmovilización (EI) durante el periodo oscuro, se observó que cuatro horas después estos animales produjeron un incremento en la cantidad de SMOR (aproximadamente un 32%) sin cambios en el SOL (figura 17) [Rampin C, 1991]. Por otro lado, cuando a este mismo grupo se les sometió al mismo estresor, por 1 hora, el SMOR aumentó en 63% y el SOL en 16%. Mientras que la inmovilización prolongada o repetida indujo menor incremento de SMOR [Cespuglio R, 1992]. Se ha sugerido que el efecto se debe a la habituación de los animales a la condición estresante [Palma BD, 2000].

El efecto del EI sobre el SMOR depende de múltiples factores, tales como:

- a. La duración del estrés: Como lo muestran los estudios de EI por periodos que van de 30 minutos a 2 horas inducen aumento del SMOR, efecto que desaparece después de 4 horas [Altman JL, 1972].
- b. En condiciones crónicas de EI el SMOR disminuye [Adrien J, 1991].

- c. Cuando el EI se aplica en diferentes momentos del periodo de luz oscuridad, el efecto sobre el patrón de sueño es diferente [Koehl M, 2002], como se observa en la figura 18.

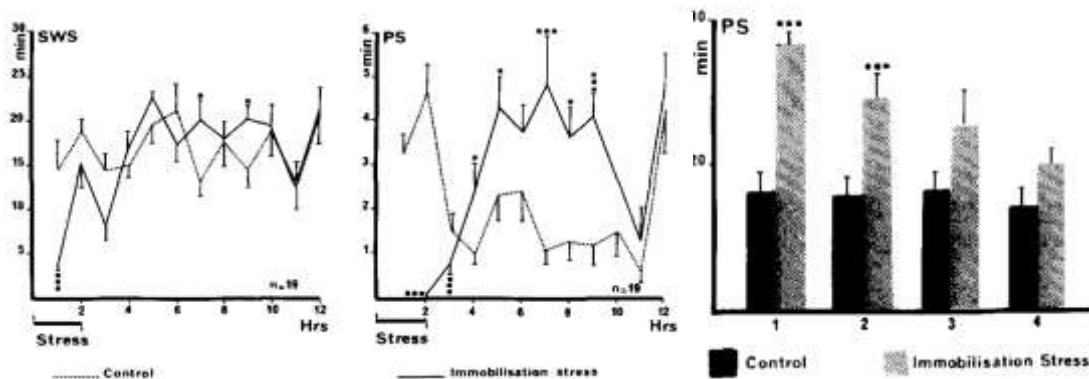


Figura 17. Las gráficas de la izquierda exhiben el resultado sobre los cambios en la duración del sueño paradójico (PS) y del sueño de ondas lentas (SWS), después someter a los animales de experimentación a dos horas de inmovilización, al inicio de la etapa oscura. Durante las 10 horas del periodo de registro, la cantidad total de SOL no se modificó pero el SMOR, incrementó de forma significativa (más del 92%). La gráfica de la izquierda describe cuál es el efecto logrado sobre el SMOR, que como se observa, se atenúa si se somete a exposiciones repetidas. Tomado de: **Rampin C, et al. Immobilization stress induces a paradoxical sleep rebound in rat. Neurosci. Lett. 126 1991.113–118.**

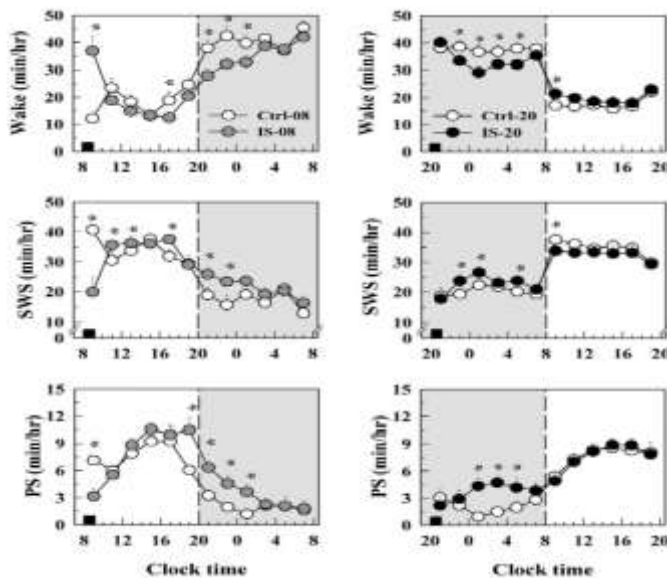


Figura 18. Efecto de una hora de estrés por inmovilización (en min/h), sobre las diferentes etapas del ciclo sueño-vigilia, cuando se aplicó el estrés durante el periodo de luz (que corresponde a las regiones claras de cada diagrama) o en el periodo de oscuridad (las regiones sombreadas) La inmovilización se efectuó a las 8:00 (IS-08) o a las 20:00 horas (IS-20). Como se observa, la vigilia es la etapa más afectada si el EI se aplica durante el periodo activo; el SOL produce resultados controversiales y el SMOR tiene importantes modificaciones en el periodo oscuro.

Tomado de: **Koehl M, et al. The effect of restraint stress on paradoxical sleep is influenced by the circadian cycle. Brain Res. 2002 May 24;937(1-2):45-50.**

La privación selectiva de sueño paradójico (PSSP) o privación selectiva de SMOR, produce en el sujeto un periodo de recuperación de la etapa de sueño faltante, una vez que se le permite dormir, efecto que también se conoce como “rebote de SMOR”.

En un estudio hecho en el gato, el SMOR ocupó aproximadamente un 33% del tiempo total de sueño. Cuando los animales se sometieron a PSSP, despertándolos cada vez que llegaban a esta etapa, una vez que se les permitió dormir ininterrumpidamente, el sueño paradójico incrementó significativamente, ocupó el 53% del tiempo total de sueño (figura 19). [Siegel J, 1965, Vázquez-Palacios G, 2004].

Table 1. Paradoxical sleep during both control and recovery days expressed in minutes and as percentage of the total sleeping time. CD 2, CD 1, and CD 13 are experimental animals; CD 8 is the control.

	Control days					Recovery days				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
	<i>CD 2</i>									
Minutes	104	157	175	138		246	174	184	177	
Percentage	27.6	31.7	33.4	28.1		44.0	33.4	32.5	30.4	
	Mean 143.5 min, 30.2%									
	<i>CD 1</i>									
Minutes	85	149	119	121	135	225	120	132	117	122
Percentage	32.2	33.6	26.7	30.3	30.5	52.3	38.2	36.6	34.2	31.8
	Mean 121.8 min, 30.6%									
	<i>CD 13</i>									
Minutes	159	165	147	166	152	286	191	160	195	133
Percentage	41.7	40.1	35.4	40.1	36.9	62.5	50.9	44.5	46.0	38.4
	Mean 157.8 min, 38.8%									
	<i>CD 8</i>									
Minutes	157	156	171	164	159	159	165	156		
Percentage	40.3	39.3	39.2	36.5	38.1	36.4	41.0	38.2		
	Mean 161.4 min, 38.7%									

Figura 19. Estudio de hecho en gatos privados selectivamente de sueño paradójico. La tabla resume los hallazgos de este experimento. Todos los animales de experimentación, durante el primer día de recuperación, tuvieron un acentuado aumento en el porcentaje del tiempo total de sueño, que en promedio fue de 52.9% para el SP. Tomado de: Siegel J, and Gordon PT. *Paradoxical Sleep: Deprivation in the Cat. Science. 1965; 148 (3672) May 14: 978-980.*

Desde el primer estudio relacionado con la PSSP, tanto en humanos como en animales, se hicieron dos observaciones fundamentales: **a.** En individuos con PSSP prolongados, se incrementa la propensión al sueño; **b.** Durante la fase de recuperación, los sujetos: compensan el SP perdido, la latencia al primer episodio de SMOR se acorta y el tiempo en el que el individuo permanece en esta etapa se alarga. El primer abordaje experimental para lograr la PSSP, fue el método del florero invertido en gatos [Jouvet D, 1964]. Pero este método ha sido extensamente criticado por someter al animal a diversos estímulos adversos que pueden ser los causantes de los efectos que se observan: **a.** A las 96 horas de PSSP: la privación y el estrés producen hipertermia [Seabra MVL, 1993]. **b.** La privación y el aislamiento social acelera los efectos de la enfermedad autoinmune [Lourenzi VPM, 1993]. **c.** la prolongada exposición a la privación, conlleva a una importante activación del EHHS [Fradda P, 1997]. Al ver todo ese cúmulo de inconvenientes, se le propusieron modificaciones que pretenden reducir al máximo el efecto del estrés intrínseco de la prueba y que predomine sólo el efecto de la PSSP. Un modelo similar al de Jouvet aplicado a la rata, se utilizó una plataforma estrecha rodeada de agua, cuando la rata llega al SMOR, la hipotonía muscular característica de esta etapa del sueño, causa que el animal caiga al agua o la toque, despertándolo y obligándolo a regresar a su plataforma.

En este experimento se propuso que el grupo control utilizara una plataforma ancha que le permitiera dormir, bajo las mismas condiciones ambientales que el grupo experimental [Cohen HB, 1965]. En otro modelo, se aumentó el número de plataformas [Van Hulzen ZJM, 1981] Y en una modificación posterior, las ratas privadas de sueño pertenecieron al mismo grupo social [Nunes GP, 1994]. La privación simultánea de varios animales en el mismo recipiente reduce el estrés inherente del aislamiento social y si los individuos que se sometían a la privación, pertenecen al mismo grupo, se reduce el estrés causado por la inestabilidad social [Suchecki D, 2000]. Todas estas modificaciones al modelo de la plataforma múltiple para el estudio de PSSP han permitido disminuir de manera significativa los efectos de algunos estresores inherentes al método, permiten estudiar con mayor grado de confiabilidad los efectos causados sólo por la privación de sueño.

MARCO TEÓRICO

Antecedentes

De lo expresado hasta ahora, es importante resaltar lo siguiente:

- I. **a)** La HA es un autacoide que participa en la respuesta inflamatoria y la hipersensibilidad alérgica. **b)** En el SNC es el principal neurotransmisor del llamado SH, que a su vez, está involucrado en la regulación del ciclo sueño-vigilia a través de sus proyecciones hacia las principales estructuras del sistema nervioso, relacionadas con la regulación de este ciclo. **c)** Los receptores de HA, principalmente los H1 y H3 están estrechamente vinculados con la inducción, facilitación e inhibición de la vigilia. **d)** Que el funcionamiento del SH en el control del ciclo sueño-vigilia puede ser alterado por la administración de fármacos agonistas y antagonistas de los receptores H1 y H3, o que inhiban la acción de la enzima que regula la síntesis de HA, la HDC, o bien fármacos que causen la hiperpolarización del NTM. **e)** El ritmo circadiano generado por el reloj biológico (el NSQ) es modulado por el SH, especialmente en la inducción de cambio de fase del ritmo. **f)** Muchos de los efectos causados por la HA tanto en la periferia como en el SNC, tienen ritmo circadiano.
- II. Los fármacos antihistamínicos utilizados para combatir los efectos de la hipersensibilidad alérgica, y que además son capaces de atravesar la BHE se conocen como antihistamínicos sedantes (AH1S), por su efecto al actuar sobre los receptores H1 del SNC, inducen una disminución de la respuesta psicomotriz (efecto sedante). A los antihistamínicos que no atraviesan la BHE se les conoce como AH1NS y por tal razón produce menos efectos sobre el SNC. Los AH1S son capaces de modificar el patrón de sueño, principalmente causa una disminución en la etapa del SMOR.
- III. La expresión de las etapas de sueño, es influida por eventos ocurridos en la vigilia previa. Por ejemplo el estrés por inmovilización, causa un aumento del SMOR. Además, el estrés tiene diferentes efectos sobre el patrón de sueño, en función del momento del ciclo luz-oscuridad que se aplique.
- IV. La privación selectiva de SMOR produce (una vez que al individuo se le permite dormir), un periodo de recuperación de esta etapa, conocido como “rebote de SMOR”.
- V. En resumen, mientras los AH1S reducen el SMOR, el EI y la PSSP lo incrementan. Estos hechos conforman la base del diseño y ejecución del presente proyecto.

Hipótesis

- La sensibilidad del Sistema Histaminérgico, en su papel regulador del ciclo sueño-vigilia, oscilará en función del ritmo circadiano y se acompañará de alteraciones en el patrón de sueño-vigilia que le antecede.

Adicionalmente, se hicieron las siguientes reflexiones: Si se enfrentan dos estrategias, una que produce un incremento en el SMOR como es el caso de la privación de sueño y el estrés, con otra que lo disminuye, por ejemplo con antihistamínicos ¿Cuál de estas tendrá mayor peso en los resultados? Esto dio pie a considerar dos hipótesis más.

- El aumento del SMOR, causado por el estrés por inmovilización, puede ser modificado por la aplicación de un AH1S, que lo disminuye. El resultado estará en función del momento del ciclo luz-oscuridad en que se aplique el AH1S.
- El rebote de SMOR causado por la PSSP, será modificado si aplica un AH1S.

Objetivos

Objetivo General: Evaluar, mediante registros polisomnográficos (PSG), la sensibilidad del SH a los AH1S y AH1NS, a través de cambios en la arquitectura del sueño, de ratas sometidas a diferentes dosis de AH1, diferentes momentos de administración y alteraciones en la vigilia previa al sueño.

Objetivos Específicos:

- Evaluar mediante estudios PSG de 8 horas de duración, a partir del inicio de los periodos luminoso y oscuro, el efecto que tiene el AH1S CLORFENIRAMINA y el AH1NS TERFENADINA sobre el patrón de sueño en la rata.
- Estudiar los efectos de un AH1S sobre el incremento de SMOR, en condiciones de alteraciones en la vigilia previa: a) Por privación selectiva de SMOR y b) Por exposición a estrés por inmovilización.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales.

Se utilizaron ratas Wistar machos de 350 a 400 g de peso corporal. Los animales fueron proporcionados por el Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. La habitación donde fueron confinados los animales, se mantuvo con ciclos de luz-oscuridad de 12 h X 12 hs (encendió a las 9:00 horas) y temperatura ambiente de 23°C aproximadamente. Los animales tuvieron libre acceso al agua y alimento (Purina Chow para rata). Todos los procedimientos experimentales se efectuaron de acuerdo a: *The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the National Institutes of Health of the United States of America*, aprobado por el Comité de Ética para el Cuidado de Animales, de la UAMI. Todas las estrategias experimentales con los animales, se efectuaron con la intención de minimizar el sufrimiento. Solo se utilizó el número de animales requeridos para un apropiado análisis estadístico.

Procedimiento quirúrgico para la implantación de electrodos

La técnica quirúrgica seguida, se basa en la propuesta por el grupo de investigación de Velázquez-Moctezuma [Vázquez-Palacios G, 2003]. Bajo anestesia general con un cóctel anestésico elaborado con: ketamina (3.75 mg/100g), xilazina (0.19 mg/100g) y acepromacina (0.038 mg/100g) aplicado por vía intraperitoneal (ip), se fijaron en el cráneo cinco tornillos de acero inoxidable (electrodos) conectados a 5 cables aislados, de la siguiente manera: cuatro de ellos entre bregma y lambda, bilateralmente a la sutura medio-sagital y el quinto en el hueso frontal. Para el registro electromiográfico (EMG), se utilizaron cuatro alambres flexibles y aislados de acero inoxidable firmemente fijados a los músculos de la nuca. Los cables tanto los de los tornillos como los de los músculos, fueron conectados a un dispositivo que permite mantener la separación de los electrodos y hacer la conexión entre los electrodos con el dispositivo que se unirá al polígrafo que registrará los trazos del EEG y el EMG. Finalmente el dispositivo se fijó al cráneo por medio de cemento acrílico para uso dental. La inclusión y análisis del EEG y el EMG, conforman el estudio polisomnográfico (PSG). El dispositivo implantado al animal de experimentación, después del tratamiento quirúrgico, queda como se muestra en la figura 20.



Figura 20. En estas fotografías tomadas de nuestros animales de experimentación, se advierte el dispositivo implantado en el cráneo de la rata, que soporta los cables de los electrodos para el EEG y el EMG. El conector es finalmente fijado con cemento

dental. Después del periodo postoperatorio (una semana) y del de habituación (24 horas antes de la prueba), este dispositivo se conecta al polígrafo a fin de registrar el PSG del estudio de sueño. **Fotografías tomadas en el Área de Neurociencias de la UAMI.**

A los 7 días de la implantación de los electrodos y de 24 horas antes de la prueba, el dispositivo implantado se conecta a un cable que simula las condiciones en que se realizarán los estudios PSG a fin de que el animal se habitúe a la prueba.

Fármacos

Como AH1S se utilizó el maleato de clorfeniramina (CFA) [(±)-Chlorpheniramine maleate salt. Key number C3025] y como AH1NS la terfenadina (TFA) [Terfenadine. Key number T9652], de Sigma-Aldrich. Ambos aplicados en dos dosis: 20 y 10 mg/kg/vía ip respectivamente, que corresponden a las dosis que usualmente se utilizan en rata, en este tipo de estudios.

El grupo control lo conforman animales intactos y a los que fueron fueron inyectados con vehículo (0.2 mL de etanol ó 0.2 mL de solución salina). Como los registros PSG no mostraron diferencias significativas, se decidió hacer de ellos uno solo grupo. Por tal razón el número de individuos de éste es el mayor de todos los formados.

Para elegir la dosis de CFA con mayores efectos sobre los patrones de sueño-vigilia, se hizo análisis que implicó la relación dosis-respuesta. Se encontró que los efectos más marcados se lograron con la administración de la dosis: 20 mg/Kg de peso. El bolo administrado se ajustó para ser inyectado en un volumen de 0.2 ml/ip 30 minutos antes de iniciar el registro PSG. La aplicación de las dosis posibles, se eligió de forma aleatoria.

Registros PSG

La duración del registro PSG fue de 8 horas, que se practicaron al inicio de sendos periodos del ciclo luz-oscuridad (figura 22).



Figura 22. Una vez que concluye el periodo postoperatorio de recuperación, se le coloca al animal el cable conector de habituación, durante las 24 horas previas al estudio PSG. Durante el registro, el dispositivo implantado al cráneo del animal, es parte de la interfase que une a la rata con el

polígrafo. *Fotografías tomadas en el Área de Neurociencias de la UAMI.*

La evaluación de las etapas de sueño, se hizo de acuerdo al método propuesto por el grupo de Takeuchi [Takeuchi E, 1970]. De los registros PSG se identificaron cuatro etapas posibles: El sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR), la Vigilia (V), Sueño Ligero de Ondas Lentas (SOL I ó S I), Sueño Profundo de Ondas Lentas (SOL II ó S II), los dos últimos forman parte del sueño sin movimientos oculares rápidos (SNMOR). Los trazos visibles en el registro, se muestran en la figura 23.



Figura 23. El registro PSG se efectuó en papel. Son evidentes cuatro posibles etapas que son notoriamente diferentes. La actividad EEG es más rápida y de menor voltaje en el SMOR y la Vigilia. La

actividad lenta aparece en el SOL I y es totalmente dominante en el SOL II. La actividad del EMG es manifiesta en la Vigilia y mucho menor durante el SOL I y SOL II y nula en el SMOR. Las etapas obtenidas en el registro, una vez que fueron identificadas y medidas, son evaluadas por medio de un programa específicamente desarrollado para tal fin en el Área de Neurociencias de la UAMI por la Dra. Anabel Jiménez, cuya carátula se muestra en la gráfica.

La evaluación del registro PSG se hizo aplicando la estrategia de doble ciego y las variables del sueño, se obtuvieron mediante un programa de cómputo, desarrollado por el grupo de la Dra. Anabel Jiménez Anguiano, para el Área de Neurociencias de la UAMI (figura 23).

EXPERIMENTO I: Efectos de la terfenamida (TFA) y clorfeniramina (CFA) sobre la estructura del patrón de sueño y sus variaciones circádicas.

Se evaluó si la sensibilidad a un AH1S (la CFA) o un AH1NS (la TFA), se refleja en la alteración de la arquitectura del sueño y si los cambios están en función de la dosis y del momento del ciclo luz-oscuridad en que son administrados. Los registros poligráficos se practicaron al inicio de los periodos luminoso y oscuro.

EXPERIMENTO II: Efectos del EI y la CFA sobre el patrón de sueño, y sus variaciones circádicas.

Una vez reconocido que 20 mg/kg de CFA es la dosis del fármaco con mayores efectos sobre los patrones de sueño, el siguiente paso fue estudiar las interacciones entre la CFA con alteraciones en la vigilia previa al registro PSG, inducidas ya sea sometiendo a los animales a estrés por inmovilización o bien sometiénolos a PSSP.

La inmovilización se efectuó colocando al animal en un cilindro estrecho durante dos horas (figura 24) previas al periodo de luz o al de oscuridad respectivamente, de acuerdo al método propuesto por los grupos de Mayo y Velázquez Moctezuma [Koehl M, 2002, Vázquez-Palacios G, 2003].



Figura 24. El estrés por inmovilización se efectúa colocando a la rata dentro de un pequeño tubo de PVC, adaptado para tal fin. El animal queda, durante 2 horas, contenido en el interior, gracias a dos pequeñas mallas colocadas en los extremos del tubo. Foto **Fotografías tomadas en el Área de Neurociencias de la UAMI.**

EXPERIMENTO III: Efectos de la PSSP y la CFA sobre el patrón de sueño.

Para este experimento, previo al registro PSG y la administración de los antihistamínicos, los animales fueron sometidos a PSSP. El método consiste en colocar a los animales en una cámara que contiene un determinado número de plataformas, en la que siempre es mayor al número de animales introducidos, a fin de permitir la libre movilidad. A tal dispositivo se conoce como Cámara de Privación de Sueño de Múltiples Plataformas (figura 25), siguiendo el protocolo propuesto por el grupo de Tufik [Suchecki D, 2000].

Dos grupos de animales fueron sometidos a PSSP. Uno de ellos por 24 horas y el segundo por 48 horas.



Figura 25. La privación selectiva de sueño paradójico se logra cuando se coloca a los animales de experimentación en el recipiente que tiene el sistema de plataforma múltiple sumergidas en agua. Cuando ocurre la hipotonía muscular producida por el SMOR, el animal cae al agua, lo despierta y regresará a su plataforma. La cámara de privación con de plataforma múltiple, en la que se colocan menos animales que el total de plataformas a fin de que tengan libre movilidad, permite disminuir en la prueba, el estrés inherente a al inmovilidad y el aislamiento. .En la fotografía de la izquierda están dos ratas en sendas plataformas. La fotografía del lado derecho, muestra a la cámara sin animales. **Fotografías tomadas en el Área de Neurociencias de la UAMI.**

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron se expresan en las gráficas como la Media \pm MEE. Fueron analizados por sendas pruebas de Kruskal-Wallis: una de ellas se aplicó para el análisis de varianza de todos los grupos; y una prueba *post-hoc*, a fin comparar a cada uno de los grupos experimentales con el control. Cuando en las diferencias el valor registrado fue de $p < 0.05$, se consideraron significativas.

Formación de los grupos experimentales

El proyecto de investigación se dividió en tres etapas experimentales, y los grupos formados quedaron como a continuación se presentan.

- I. Efectos de la terfenamida (TFA) y clorfeniramina (CFA) sobre la estructura del patrón de sueño y sus variaciones circádicas.

Periodo oscuro			Periodo luminoso		
	<i>Grupo</i>	<i>n</i>		<i>Grupo</i>	<i>n</i>
A	Control	14	A	Control	28
B	TFA 10 mg/kg	5	B	TFA 10 mg/kg	9
C	TFA 20 mg/kg	5	C	TFA 20 mg/kg	8
D	CFA 10 mg/kg	9	D	CFA 10 mg/kg	6
E	CFA 20 mg/kg	7	E	CFA 20 mg/kg	8

- II. Efectos del EI y la CFA sobre el patrón de sueño, y sus variaciones circádicas.

Periodo oscuro			Periodo luminoso		
	<i>Grupo</i>	<i>n</i>		<i>Grupo</i>	<i>n</i>
A	Control	13	A	Control	14
B	EI	10	B	EI	10
C	EI + Vehículo	10	C	EI + Vehículo	8
D	EI + CFA 20 mg/kg	10	D	EI + CFA 20 mg/kg	9

- III. Efectos de la PSSP y la CFA sobre el patrón de sueño.

PSSP 24 horas			PSSP 48 horas		
	<i>Grupo</i>	<i>n</i>		<i>Grupo</i>	<i>n</i>
A	Control	8	A	Control	8
B	CFA 20 mg/kg	9	B	CFA 20 mg/kg	9
C	PSSP	7	C	PSSP	9
D	PSSP + Vehículo	8	D	PSSP + Vehículo	9
E	PSSP + CFA 20 mg/kg	8	E	PSSP + CFA 20 mg/kg	10

RESULTADOS

EXPERIMENTO I. Efectos de la terfenamida (TFA) y clorfeniramina (CFA) sobre la estructura del patrón de sueño y sus variaciones circádicas.

En la figura 26 se muestran los resultados de la administración de la TFA y CFA sobre el patrón de sueño. Mientras que ninguna dosis de TFA indujo cambios significativos en las diferentes etapas del sueño, ambas dosis de CFA, indujeron una disminución significativa del tiempo total de sueño y en la misma medida aumentó la vigilia aunque sólo en el periodo luminoso.

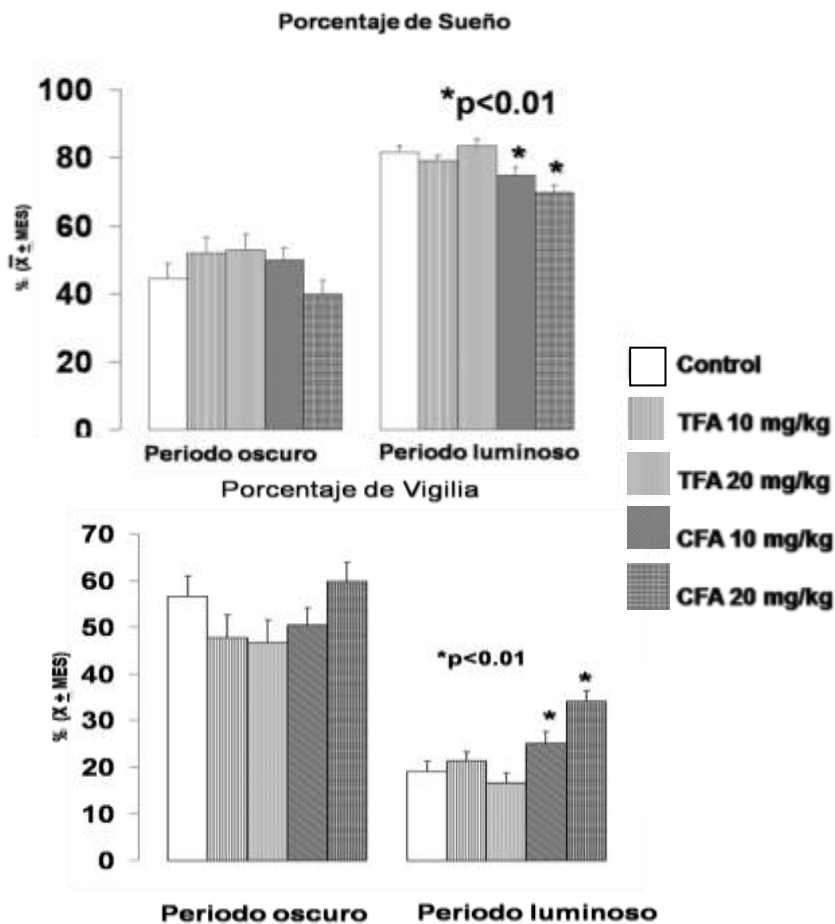


Figura 26. El porcentaje de sueño no cambió durante el periodo activo de los animales. Afectó más a la etapa en la que comúnmente tiene mayor cantidad de sueño. El AH1S tuvo un efecto alertante en el periodo menos activo del animal, en este caso se comportó más como un activador del SNC. El AH1NS no causó algún efecto significativo. Resultados presentados en el **XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2006**, realizado en la Ciudad de Querétaro [Rojas-Zamorano JA, et al., 2006].

Como se muestra en la figura 27, ninguno de los antihistamínicos alteró significativamente los porcentajes del SNMOR.

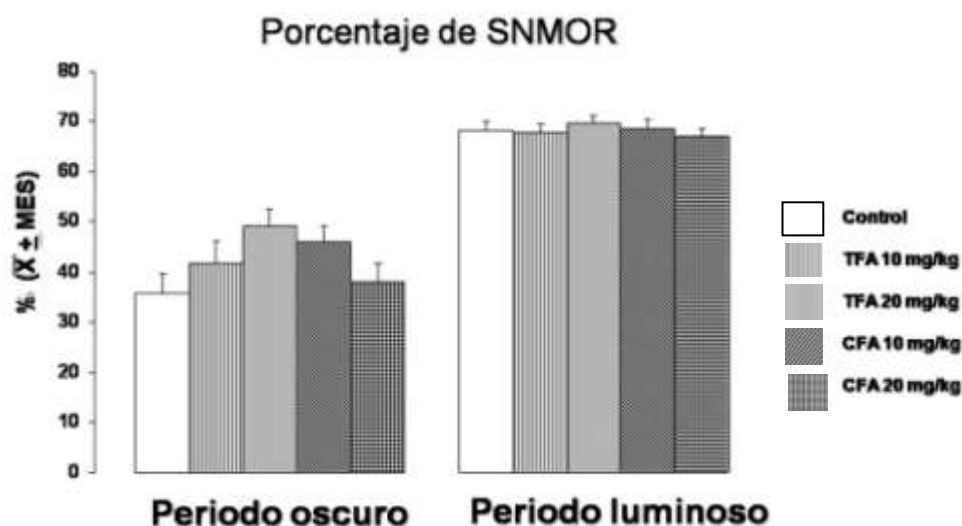


Figura 27. Aunque se muestra una tendencia a aumentar el SNMOR por efecto de la TFA durante el periodo activo de los animales, no alcanzan a ser significativamente diferentes. En el periodo luminoso no se presentan diferencias en ninguno de los antihistamínicos, la cantidad de SNMOR es esencialmente el mismo para todos los grupos. Resultados presentados en el **XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2006**, realizado en la Ciudad de Querétaro [Rojas-Zamorano JA, et al., 2006].

Los cambios más importantes en los patrones de sueño se observaron con la dosis más alta de CFA (20 mg/kg), que disminuyó significativamente la cantidad de SMOR en ambas etapas del ciclo luz-oscuridad (figura 28). Además, esta dosis de CFA también indujo mayores efectos ($p < 0.05$) tanto en el número de eventos de SMOR como en su duración promedio (figura 29).

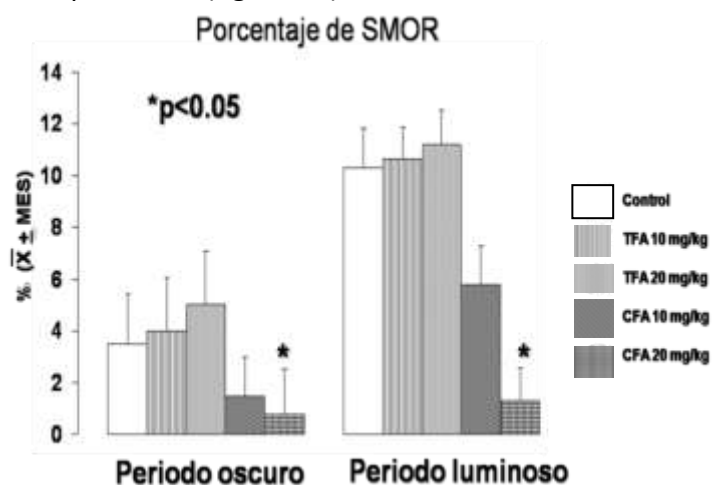


Figura 28. La tendencia en ambas etapas del ciclo luz-oscuridad fue que el AH1S, a disminuir la cantidad de SMOR, aunque sólo fue significativa con la dosis mayor. El AH1NS no produjo alteraciones. Resultados presentados en el **XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2006**, realizado en la Ciudad de Querétaro [Rojas-Zamorano JA, et al., 2006].

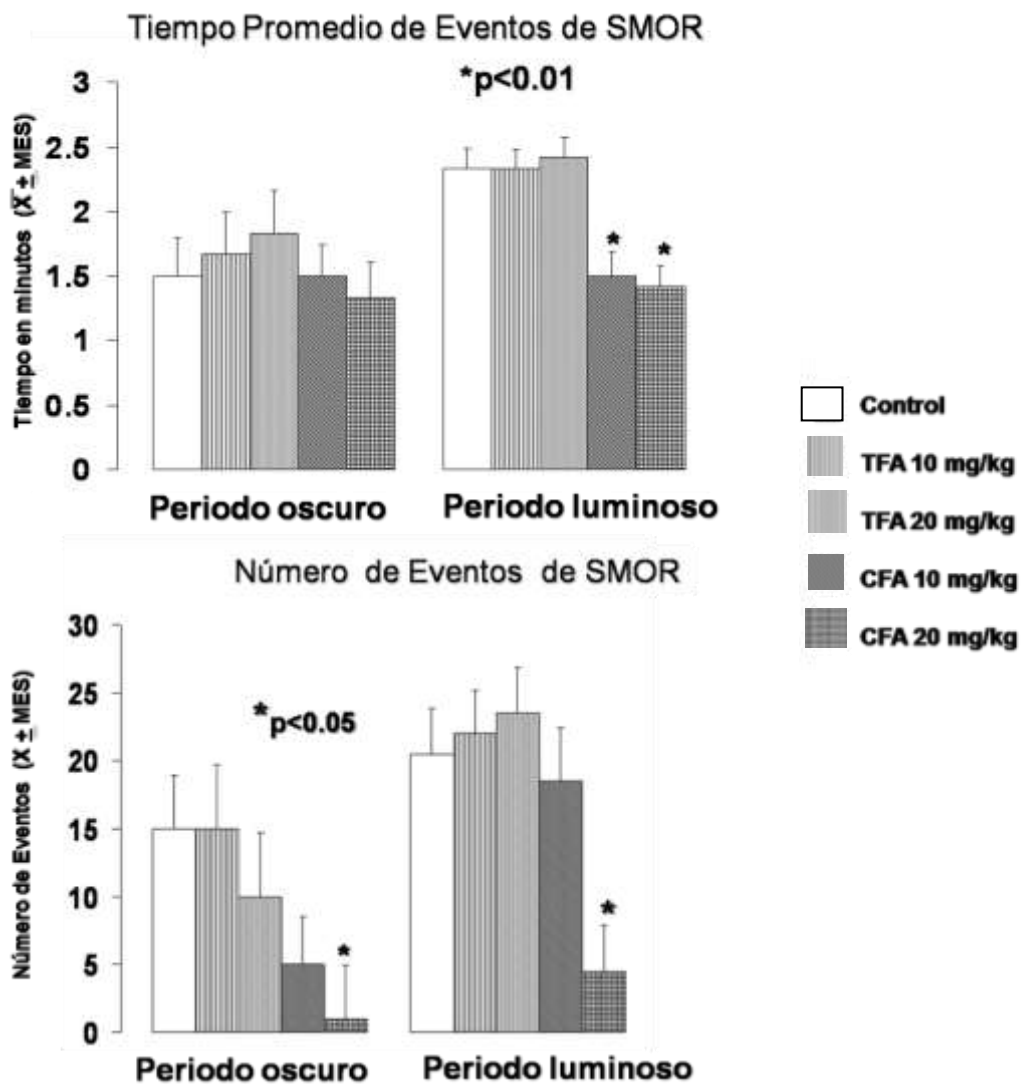


Figura 29. Durante el periodo activo del animal, el AH1S disminuyó el número de veces que los animales entraron a SMOR, y afectó la duración de cada evento en ambos periodos del ciclo luz oscuridad. El AH1NS no produjo variaciones significativas. Resultados presentados en el **XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2006**, realizado en la Ciudad de Querétaro [Rojas-Zamorano JA, et al., 2006].

EXPERIMENTO II. Efectos del EI y la CFA sobre el patrón de sueño, y sus variaciones circádicas.

Basados en el experimento anterior, para éste se utilizó la dosis 20 mg/kg de CFA, que fue la que tuvo los mayores efectos sobre el patrón de sueño. Para este experimento, los animales se dividieron en 4 grupos: **Grupo Control:** formado por animales intactos. **Grupo EI:** este grupo sólo fue sometido a estrés por inmovilización. **Grupo EI + Vehículo:** (0.2 mL de etanol) inyectado al final del periodo de estrés. **Grupo EI + CFA:** la CFA se inyectó al final del periodo del EI. Los estudios PSG con los respectivos tratamientos experimentales se realizaron en ambos periodos del ciclo luz-oscuridad.

Porcentaje de las etapas producidas en el PSG

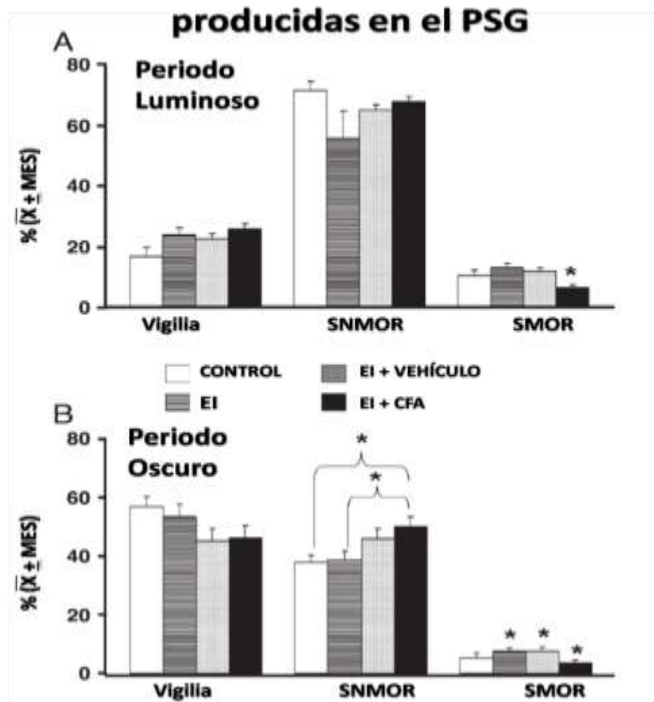


Figura 30. Los diagramas presentan los porcentajes de las etapas que se presentaron en las 8 horas de registro PSG, efectuado 2 horas después de estrés por inmovilización. El panel A corresponde al periodo luminoso, en tanto que el B al periodo oscuro. Se tomó y modificó de: **Rojas-Zamorano JA, Esqueda-Leon E, Jimenez-Anguiano A, Cintra-McGlone L, Mendoza-Melendez MA, Velazquez Moctezuma J.** The H1 histamine receptor blocker, chlorpheniramine, completely pre-vents the increase in REM sleep induced by immobilization stress in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* (2008). Article in press.

Como se puede observar en la figura 30, durante el periodo luminoso (panel A), no se produjo el incremento del SMOR, que comúnmente se presenta cuando se aplica el EI en el periodo oscuro. El SMOR sufrió decremento por la acción del AH1S. En el panel B es manifiesto el incremento significativo de SMOR en el grupo que solamente fue estresado, así como en el que, además, se le aplicó la inyección con vehículo, conforme los trabajos antes citados [Rampin C, 1991, Koehl M, 2002]. Pero el grupo que recibió el AH1S, anuló el incremento esperado de SMOR y además lo disminuyó significativamente si se le compara con el control. En cuanto al SNMOR, en la fase luminosa no tiene variaciones significativas (panel A). Pero en el periodo oscuro (panel B), en el grupo que recibió la CFA, esta etapa incrementó significativamente con respecto al control y al grupo que solo recibió la condición estresante.

La figura 31 revela que no sólo la cantidad total de SMOR se vio afectada, sino también el periodo de latencia y la frecuencia de esta etapa sufrieron cambios. El periodo luminoso, produjo una latencia disminuida a esta etapa por parte del grupo que sólo recibe la condición estresante, y este mismo tiene una tendencia, aunque no es significativa, de aumentar el número de eventos de SMOR. En comparación, el grupo tratado con CFA tuvo un retardo en el periodo de latencia para el inicio de SMOR, además de presentar un menor número de eventos.

En el periodo oscuro, la latencia a SMOR fue semejante en los grupos *EI* y *EI + vehículo*. En el grupo *EI + CFA*, el periodo de latencia del SMOR se incrementó significativamente, sin embargo, aunque se observó una disminución en el número de eventos de SMOR, las diferencias no fueron significativas con respecto al grupo control.

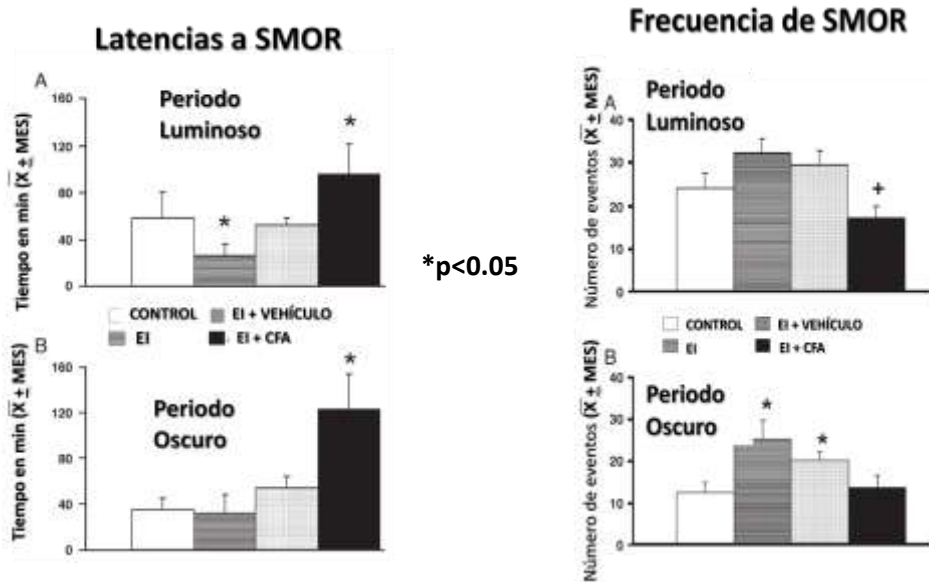


Figura 31. Los esquemas de la derecha, corresponden a la Latencia a SMOR (paneles A y B) de los dos periodos del ciclo luz-oscuridad, en tanto que los diagramas de la izquierda corresponden al número de eventos de SMOR que se presentaron en las 8 horas del registro (frecuencia a SMOR). Se tomó y fue modificado de: Rojas-Zamorano JA, Esqueda-Leon E, Jimenez-Anguiano A, Cintra-McGlone L, Mendoza-Melendez MA, Velazquez Moctezuma J. The H1 histamine receptor blocker, chlorpheniramine, completely prevents the increase in REM sleep induced by immobilization stress in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* (2008). Article in press

EXPERIMENTO III. Efectos de la PSSP y la CFA sobre el patrón de sueño.

Es sabido que SMOR se incrementa después de la privación selectiva de sueño paradójico, mientras que los resultados del Experimento II indican que la CFA indujo una disminución significativa del SMOR. Basados en estos resultados, pensamos que la administración de CFA en animales con PSSP inducirá cambios en el patrón de sueño y que afectaría el “rebote de sueño”. Para probar esta hipótesis se realizó el siguiente experimento:

Los grupos de animales se dividieron en: **Control**: conformado por animales intactos, **CFA**: animales a los que sólo se les aplicó el AH1S. **PSSP 24 hs**: animales a los que sólo se privó de sueño paradójico. **PSSP 24 hs + vehículo**: animales con privación de sueño a los que se les aplicó el vehículo (0.2 mL de etanol). **PSSP 24 hs + CFA (20 mg/kg)**: animales con privación de sueño a los que se les aplicó el AH1S.

Con el objeto de hacer más evidentes los efectos de la CFA sobre el patrón de sueño, en un segundo experimento, con los mismos grupos de animales, pero a diferencia del anterior, el periodo de privación de sueño fue de 48 horas.

Efectos de la PSSP por 24 horas y la CFA sobre el patrón de sueño

En la figura 32 se observan los porcentajes de las diferentes etapas del ciclo sueño-vigilia en los diferentes grupos. Obsérvese como, en comparación con el grupo control, los grupos PSSP y PSSP+vehículo la privación de sueño disminuyó significativamente el porcentaje de vigilia, no afectó los porcentajes de SNMOR (SLI y SLII) y el SMOR tiende a aumentar (como frecuentemente se espera), aunque no significativamente. En esta misma figura se observa que la administración de CFA indujo una disminución significativa del porcentaje de SMOR en los grupos CFA y PSSP 24 horas + CFA [Siegel J, 1965, Vázquez-Palacios G, 2004].

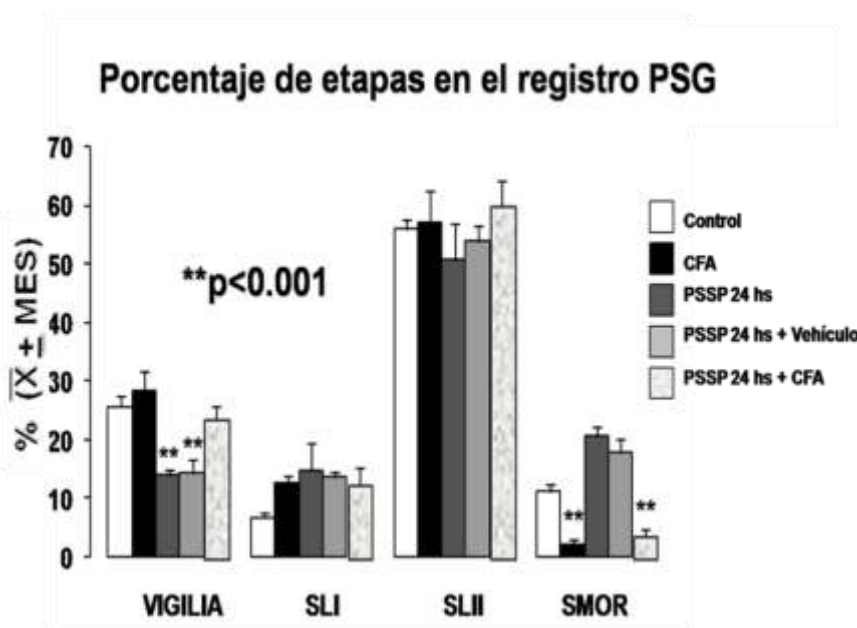


Figura 32. Porcentaje de las etapas que se presentaron durante el estudio PSG de 8 horas. Los animales de los últimos tres grupos fueron sometidos a PSSP por 24 horas. Solo dos últimos recibieron una inyección, ya sea con el vehículo o con CFA 20 mg/kg, antes de iniciar el estudio de sueño. Los resultados experimentales fueron presentados en el **LI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2008, celebrado en la Ciudad de Mérida** [Rojas-Zamorano JA, et al., 2008].

La figura 33 muestra los efectos de los diversos tratamientos sobre los periodos de latencias a sueño y a SMOR. Obsérvese como en los animales a los que sólo se sometió a PSSP con y sin vehículo, los periodos de latencia a sueño y a SMOR fueron significativamente menores con respecto al grupo control, lo que revela la enorme presión de sueño como consecuencia de la PSSP.

Por otro lado, en esta misma figura, se puede apreciar que los grupos tratados con CFA (CFA solo y PSSP 24 horas+CFA) tuvieron latencias a sueño y a SMOR semejantes entre sí y no fueron significativamente diferentes a las observadas en el grupo control, de manera que el AH1S elimino el efecto de la presión de sueño esperada por efecto de la PSSP.

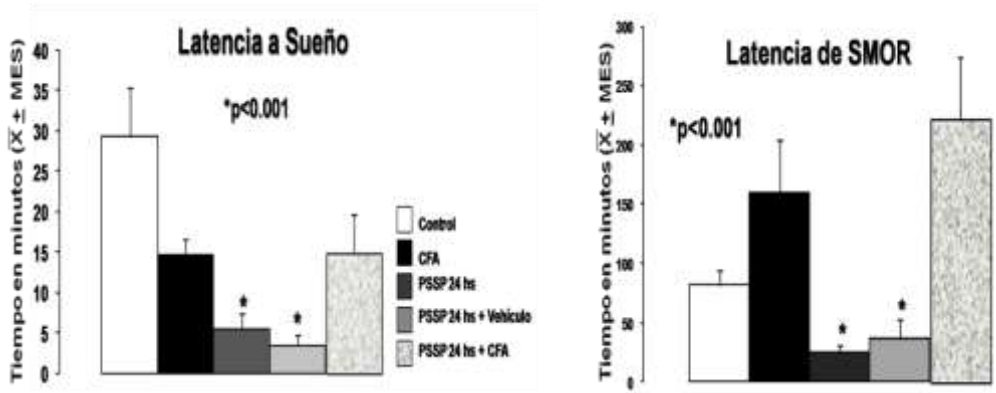


Figura 33. Latencias a sueño y a SMOR, los animales fueron sometidos conforme a lo descrito en la figura 32. Los resultados experimentales fueron presentados en el **LI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2008**, celebrado en la Ciudad de Mérida [Rojas-Zamorano JA, et al., 2008].

La figura 34 muestra que la duración y frecuencia de SMOR, en los grupos PSSP y PSSP+vehículo, fueron ligera aunque no significativamente mayores que en el grupo control. Obsérvese en esta misma figura como en el grupo tratado solo con CFA disminuyeron la duración y la frecuencia de SMOR. Asimismo, obsérvese como en el grupo PSSP 24 horas+CFA, mientras que la PSSP no modificó la duración del SMOR, la frecuencia de este tipo sueño disminuyó al nivel observado en el grupo solo tratado con CFA ($p < 0.001$ versus el grupo control).

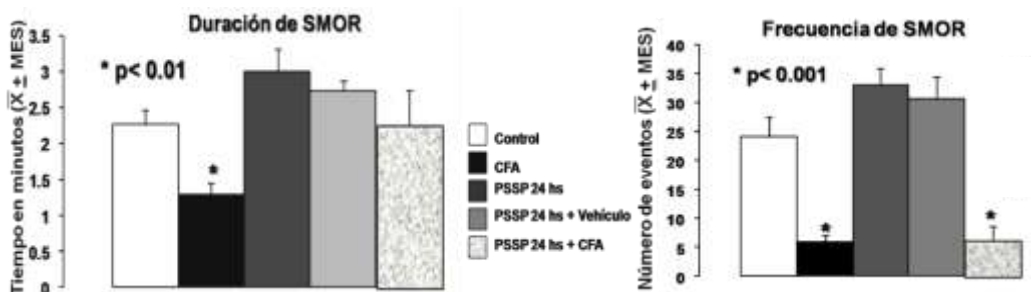


Figura 34. Duración promedio y frecuencia de eventos de SMOR, con la condición experimental descrita en la figura 32. Los resultados experimentales fueron presentados en el **LI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2008**, celebrado en la Ciudad de Mérida [Rojas-Zamorano JA, et al., 2008].

Efecto de la CFA y la PSSP por 48 horas, sobre patrón de sueño

La figura 35 muestra que al igual que lo observado previamente por otros autores [Siegel J, 1965, Vázquez-Palacios G, 2004], la PSSP por 48 horas indujo, en comparación con el grupo control, un incremento significativo en el porcentaje de SMOR. Obsérvese también, que la administración del AH1S en los grupos **CFA** y **PSSP 48 horas + CFA**, tendió a aumentar el porcentaje de vigilia aunque no de una manera significativa. Por otro lado, mientras que la administración solo de CFA no modificó el porcentaje de SOL II, la PSSP por 48 horas con o sin tratamiento con CFA indujo una disminución significativa del porcentaje de SOL II ($p < 0.05$ versus el grupo control). Al igual que lo observado en los grupos **CFA** con o sin **PSSP 24 horas**, en la PSSP por 48 horas seguido de la administración de CFA, el AH anuló tanto el rebote de SMOR como su cantidad total ($P < 0.001$ versus los grupos **PSSP** y **PSSP + vehículo**).

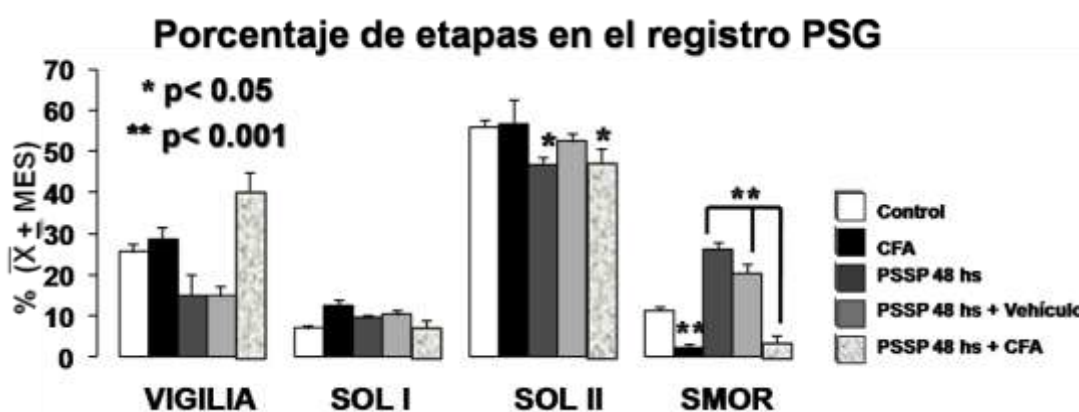


Figura 35. Porcentaje de las etapas que se presentaron durante el estudio PSG de 8 horas. Los animales de los últimos tres grupos fueron sometidos a PSSP por 48 horas, y solo los dos últimos recibieron una inyección, ya sea con el vehículo o con CFA 20 mg/kg, antes de iniciar el estudio de sueño. Los resultados experimentales fueron presentados en el **LI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2008**, celebrado en la Ciudad de Mérida [Rojas-Zamorano JA, et al., 2008].

Al igual que lo observado en los animales con PSSP 24 horas con y sin tratamiento con CFA, la PSSP por 48 horas seguido o no de la inyección de CFA indujo cambios semejantes pero más evidentes. En la figura 36 se muestran los efectos de los diversos tratamientos sobre la latencia sueño y a SMOR. Obsérvese como la PSSP con o sin la administración del vehículo las latencias a sueño y a SMOR disminuyeron significativamente, mientras que en los grupos con PSSP tratados o no con CFA, el AH, incrementó las latencias a sueño y a SMOR.

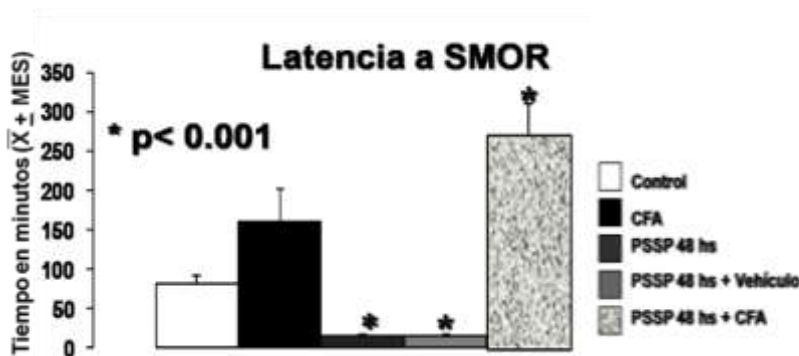
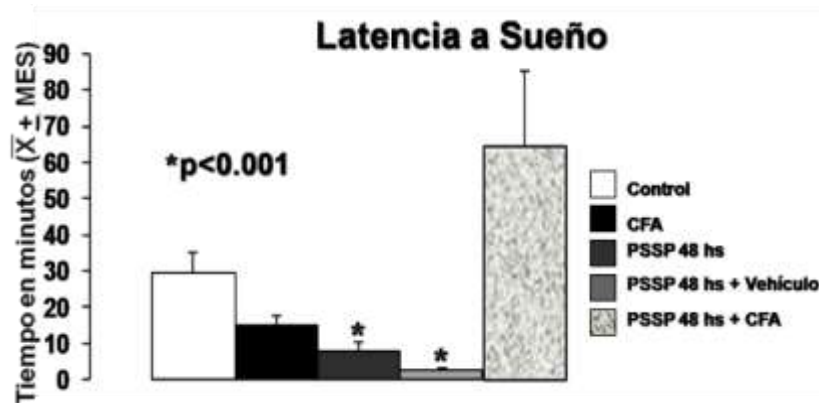


Figura 36. Latencias a sueño y a SMOR, los animales fueron sometidos conforme a lo descrito en la figura 35. Los resultados experimentales fueron presentados en el **LI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 2008**, celebrado en la Ciudad de Mérida [Rojas-Zamorano JA, et al., 2008].

DISCUSIÓN

Sin ser esencial, el SH es uno de los principales reguladores del estado de alerta [Schwartz JC, 1991, Monti JM, 1993, Lin JS, 2000, Porkka-Heiskanen T, 1994, Bárbara, A, 2002, Servos P, 1994]. Cuando se activa, el SH induce el estado de alerta y sedación cuando se inhibe. El efecto sedante se refleja, además de trastornos en las respuestas motriz y cognitiva, en la alteración de los ciclos de sueño-vigilia y trastornos en el patrón de sueño. La inhibición del SH puede ser inducida por diferentes tipos de fármacos, como los bloqueadores de la HDC que inhiben la síntesis de HA, o por bloqueadores específicos de los receptores H1 como los antihistamínicos sedantes del tipo al que pertenece la CFA [Lin JS 2000].

Por otra parte, el SH, a nivel el central y periférico, tienen ritmo circadiano, con actividad diferente en los distintos momentos del ciclo sueño-vigilia. Los cambios en los patrones de actividad neuronal del sistema, se reflejan en: manifestación de síntomas diferentes [Reinberg A, 1966], diferentes velocidades de disparo de las neuronas histaminérgicas [Monti JM, 1993], diferentes niveles de histamina y sus catabolitos en el SNC [Kiviranta T, 1993].

Se ha propuesto que la HA es un modulador de la actividad del NSQ [Cote NK, 1993]. Con esta información, es razonable pensar, que el uso de fármacos con fines experimentales o terapéuticos, para modificar la actividad del SH, deberá considerar los diferentes momentos del ciclo luz-oscuridad o del ciclo sueño-vigilia del sujeto.

Los AH1 son capaces de modificar el patrón de sueño [Lin JS, 2000]. Sin embargo uno de los resultados en investigación clínica, proponen que la mala calidad de sueño de los sujetos pudo deberse a los efectos de la rinitis sufrida durante el periodo del dormir [Kakumanu, S, 2002]. Aunque los resultados son controversiales en cuanto a que etapas del sueño y con que extensión son afectadas, la gran mayoría coincide en que la etapa más vulnerable es el SMOR.

La alteración de la vigilia previa, induce alteraciones en el patrón de sueño [Borbély A, 1989]. Experimentalmente, en la mayoría de los casos, cuando la alteración de la vigilia se hace por estrés por inmovilización, se observa un incremento en el SMOR [Rampin C, 1991].

Por otro lado, si la alteración se induce mediante la privación de algunas de las etapas de sueño, por ejemplo el SMOR, Los animales responden con un incremento en la duración de esta etapa, evento conocido como “rebote de SMOR” [Cohen HB, 1965]. En este trabajo se evaluaron los efectos de un AH1S (CFA) sobre el SMOR en animales sometidos a estrés por inmovilización y privación de sueño paradójico.

Los antihistamínicos tienen diferente capacidad para atravesar a la Barrera Hemato-Encefálica.

La mayoría de los estudios, concluyen que los AH1NS, por su menor capacidad para atravesar la BHE, tienen menos posibilidades de afectar al SNC [Sangalli BC, 1997, Slater JW, 1999, Golightly LK, 2005, Ishiguro N, 2004, Fujisaki Y, 2002] y que el efecto que pudieran producir, es fundamentalmente dependiente de la dosis [Fink M, 1979, Mattila MJ, 1999, Shigemoto Y, 2004] y de la especie del animal de experimentación [Depoortere H, 1995, Marzanatti M, 1989, McLeod RL, 1998, Dridi D, 2005].

Nuestros resultados con el antihistamínico de segunda generación, la TFA, (10 y 20 mg/kg) no indujeron cambios significativos en las diferentes etapas de sueño (figuras 26, 27, 28 y 29). Estos resultados, apoyan el concepto de que los AH1NS, tienen menores efectos sobre el SNC [Sangalli BC, 1997, Slater JW, 1999, Golightly LK, 2005, Ishiguro N, 2004, Fujisaki Y, 2002].

Efecto circadiano en la sensibilidad a los antihistamínicos.

La actividad del SH tiene ritmo circadiano, tanto en los tejidos periféricos, como en el SNC [Reinberg A, 1966, 1969 y 1988, Labrecque G, 1995, Friedman AH, 1968, 1969, Mochizuki T, 1992, Itowi N 1990, 1991]. La ritmicidad horaria del ciclo circadiano afecta la sensibilidad del sistema a los AH1 [Craig TJ, 2004]. Es sabido que el SH tiene un efecto modulador sobre el NSQ (marcapaso biológico más importante) [Inoue, I, 1996, Eaton SJ, 1995]. En el experimento I, fue manifiesto el efecto del AH1S afectando el ritmo circadiano, especialmente en los periodos de vigilia y SMOR (figuras 26, 27, 28 y 29), en donde la CFA produjo un efecto alertante que se manifestó especialmente en el periodo luminoso. Resultados similares a los nuestros, en cuanto al efecto alertante, han sido obtenidos por otros grupos de investigación [Karamanacos PN, 2004, 2007, 2008, Starbuck VN, 2000, Okamura N, 2000, Kamei C, 2000]. En uno de ellos los autores sugieren que la CFA afecta la recaptura de serotonina [Karamanacos PN, 2004, 2007, 2008], mientras que Okamura y col. (2005) describió que la CFA indujo además activación de las regiones parietal-frontal de la corteza cerebral y que el efecto fue dependiente de la dosis (figura 13) [Okamura N, 2000].

El efecto de la CFA sobre el ritmo circadiano también se pudo observar en el experimento II. En este, el estrés por inmovilización produjo alteraciones en el patrón de sueño, los cuales fueron más importantes en el periodo oscuro, en el que tanto el SMOR como el SNMOR se alteraron significativamente (figuras 30 y 31).

Papel del la CFA como inductor de somnolencia (o activador del SNC)

Un efecto de alterar la vigilia es la inducción de somnolencia. La somnolencia puede ser provocada por la administración de fármacos, cambios en la conducta o cambios en el medio ambiente. Los efectos pueden ser medidos por medio de diferentes estrategias: **A.** Registrando los cambios en la latencia a sueño. **B.** Cambios en la cantidad de sueño de ondas lentas (ondas theta o delta). **C.** Cambios en la cantidad del estado de vigilia.

Los resultados obtenidos por diferentes grupos de investigadores del papel de los antihistamínicos deprimiendo la vigilia, son contradictorios. Mientras que algunos estudios sugieren que los AH1S, son depresores de la vigilia [Tasaka K, 1989, Monti JM, 1991, Depoortere H, 1995, Tokunaga S, 2007], otros indican que estas fármacos pueden actuar como activadores del SNC [Okamura N, 2000, Karamanacos PN, 2004, 2007, 2008]. Otros grupos más, concluyen que, la somnolencia inducida por los AH1S en humanos, se debe a la mala calidad de sueño causada por los síntomas relacionados con el procesos inflamatorio activo, especialmente en el periodo nocturno [Craig TJ, 2004, Ferguson BJ, 2004, Fisher L, 2005] en el que tanto el proceso inflamatorio como los AH1S pueden sumar sus efectos, incrementando la somnolencia [Kakumanu S, 2002].

En los seres humanos es posible evaluar la somnolencia causada por los antihistamínicos, ya sea utilizando métodos subjetivos: a) llenado de cuestionarios que evalúan la calidad de vigilia y sueño, y b) midiendo los cambios en las habilidades cognitivas o psicomotoras, o por métodos más objetivos, como: a) prueba de latencias múltiples de sueño, b) prueba de vigilia prolongada y c) estudios polisomnográficos) [Clarke CH, 1978, Hindmarch I, 1978]. En un estudio se concluyó que el AH1S indujo somnolencia en base la disminución de la latencia a sueño [Boyle J, 2006]. En otro, solo se observó disminución de la latencia a sueño cuando las dosis de AH1S fueron muy altas [Shigemoto Y, 2004]. En el siguiente estudio, de Bassano et al, (1979), no se tomó la latencia a sueño como marcador de somnolencia, sino la alteración en las etapas de sueño y la mayor duración de ondas lentas en el registro. En cuanto a los resultados obtenidos utilizando métodos subjetivos, basados en los síntomas que los pacientes expresan, otro grupo de investigadores propuso el uso de AH1S como remedio para pacientes con insomnio ligero [Rickels K, 1983]. Sin embargo, el grupo de Cirillo et al. (1976) reconoce que la administración de los AH1S como hipnótico no ha sido suficientemente evaluada [Cirillo VJ, 1976].

Por otro lado, debido a las diferencias de especie, ha sido difícil interpretar los efectos sobre la somnolencia obtenidos en animales de experimentación. La conducta de sueño y los periodos de dormir son diferentes en los humanos y en los animales. En la rata se encontró que si se somete a diferentes ciclos luz-oscuridad (16 horas de luz y 8 de oscuridad o bien 12 de luz con 12 de oscuridad) los resultados fueron diferentes, llegando a la conclusión de que es difícil demostrar el efecto hipnótico de un fármaco en ratas [Halperin JM , 1981].

Con los resultados de nuestro Experimento I, encontramos coincidencia con aquellos grupos de investigación que proponen que la CFA tiene un efecto alertante [Okamura N, 2000, Karamanakos PN, 2004, 2007, 2008], caracterizado por el aumento en el porcentaje de vigilia (figura 26) especialmente en el periodo luminoso.

En ese mismo experimento, no se encontraron diferencias significativas en las latencias a sueño de ninguno de los grupos, de manera que, con los resultados de este experimento, no se puede juzgar a la CFA como un fármaco que induce somnolencia.

Del Experimento II, se hizo evidente que el estrés por inmovilización no produjo un efecto alertante. La vigilia tuvo una duración prácticamente igual en los cuatro grupos de animales, hecho que se observa tanto en el periodo oscuro como el luminoso (figura 30).

En el Experimento III, la presión de sueño causada por efecto de la PSSP, se hizo evidente solo en los grupos con PSSP por 24 y 48 horas. En estos, la vigilia disminuyó significativamente en el grupo de 24 horas, mientras que en el grupo de 48 solo se observó la tendencia a disminuir. Igualmente, la latencia a sueño disminuyó significativamente solo en el grupo de 24 horas, en los que además se presentó el llamado rebote de sueño (figuras 32 y 35).

En este mismo experimento, los animales sometidos PSSP por 24 y 48 horas y tratados con CFA, presentaron una disminución significativa a la propensión a dormir y la anulación del rebote de sueño. En este caso, el antihistamínico fue capaz de anular la presión que comúnmente se observa en los animales privados de sueño. Nuestros resultados indican bajo estas condiciones experimentales, el AH1S actúa como un activador del SNC.

Efecto sobre el Sueño de Ondas Lentas.

El análisis de la literatura sobre los efectos de los AH1S sobre el SNMOR son contradictorios. Así, mientras que unos no encuentran ningún efecto sobre el SNMOR, otros describen un incremento y otros más una disminución de esta etapa. Por ejemplo, la administración ip de pirilamina (un AH1S) en la ratas, redujo el SNMOR [Bassano JL, 1979]. En otro experimento también realizado en ratas, los AH1S aumentaron la actividad lenta del EEG, (delta en la corteza frontal y theta en el hipocampo) [Saitou K, 1999]. En el perro, los efectos de los AH1S sobre el SNMOR, dependieron del tipo de fármaco AH1S empleado (figuras 15). Así, el uso de ketotifeno y pirilamina, incrementaron el SNMOR, mientras que los otros dos AH1S (difenhidramina y CFA) no lograron alterarlo significativamente [Wauquier A, 1981, Wauquier W, 1985, Marzanatti M, 1989]. En otro trabajo hecho con ratas, la CFA y la difenidramina, no lograron alterar el SNMOR con ninguna de las tres dosis utilizadas, mientras que la ciproheptadina lo aumentó significativamente con la dosis más alta (figura 14) [Tokanuga S, 2007]. En un estudio realizado en gatos, los dos AH1S (difenhidramina y mequitazina) utilizados disminuyeron de forma significativa el SOL, mientras que con los AH1NS (astemizol) no tuvieron ningún efecto (figura 16) [Marzanatti M, 1989].

En el Experimento I, que se realizó en condiciones de no alteración de la vigilia previa, la administración de CFA no afectó el SNMOR (figura 27). Sin embargo, cuando los grupos de animales fueron sometidos a condiciones de estrés por inmovilización o PSSP (Experimentos II y III), el SNMOR se alteró significativamente. En el periodo luminoso, se produjo un aumento de SNMOR, en el grupo tratado con EI y CFA (figura 30). Mientras que en los animales sometidos a PSSP + CFA, sólo se alteró el sueño profundo (SOL II) cuando el periodo de privación de sueño se alargó a 48 horas.

Efecto de la CFA sobre el Sueño de Movimientos Oculares Rápidos

La mayoría de los estudios en donde se analiza el efecto de la CFA sobre los patrones de sueño, coinciden en que la etapa más vulnerable a los efectos del AH1S, es la de SMOR. En individuos humanos sanos, la CFA indujo una disminución en la actividad EEG del SMOR y la cantidad total de SMOR [Bassano JL, 1979]. En otra investigación con individuos sanos, se registró además un incremento en la latencia a SMOR [Boyle J, 2006]. Sin embargo, cuando se el AH1S ketotifeno a individuos con asma, el estudio PSG no mostró alteraciones de esta etapa de sueño [Catterall JR, 1983]. La disminución de SMOR causada por el AH1S también fue observada en: gatos [Marzanatti M, 1989], perros [Wauquier A, 1981a, 1981b, Wauquier W, 1985], ratas [Tokanuga S, 2007, Saitou K, 1999, Kaneko, 2000] y humanos [Nicholson AN, 1985]. La disminución de SMOR fue el efecto que se observó en los estudios hechos con antihistamínicos, especialmente con la dosis más alta de CFA utilizada. Uno de los mecanismos que se han postulado para explicar la disminución de SMOR, es por el efecto anticolinérgico del AH1S [Kaneko Y, 2000, Martínez-Mir I, 1988, Waiquier A, 1981a]

En nuestro experimento I, (sin alteraciones de la vigilia previa), el tiempo total de SMOR disminuyó en ambas etapas del ciclo luz-oscuridad. Además, no solo se redujo el tiempo, sino también se redujo el número de eventos de SMOR, tanto en el periodo oscuro como en el luminoso (figura 29).

Como se mencionó, tanto el EI como la PSSP, producen un incremento de SMOR, como una respuesta compensatoria. Fue este tipo de respuesta, la razón por la que utilizamos estos modelos experimentales en la evaluación de los efectos de los AH1S sobre la somnolencia. Así, el aumento en el porcentaje de SMOR provocado por el EI es evidente en la fase oscura [Rampin C, 1991] (figuras 30, 32, 33, 34, 35 y 36). También es evidente que la CFA anuló el aumento esperado de SMOR y que el periodo de latencia a este tipo de sueño se incrementó significativamente en ambas etapas del ciclo luz-oscuridad.

Cuando se priva de sueño, el animal responde con el llamado “rebote de SMOR” [Siegel J, 1965]. Esta respuesta también fue observada por nosotros en los animales sometidos a PSSP por 24 y 48 horas, en los que el SMOR aumentó aunque solo significativamente en los animales privados de sueño por 48 horas (figuras 32 y 35).

CONCLUSIONES

65 Basados en los resultados de este proyecto, se puede concluir lo siguiente:

- 1) Los antihistamínicos no sedantes no afectan los patrones de sueño.
- 2) La sensibilidad a los antihistamínicos sedantes cambia en función del ritmo circadiano, en el que los efectos sobre la arquitectura del sueño, dependen del momento del ciclo luz-oscuridad en el que se administren.
- 3) Los antihistamínicos sedantes son activadores del sistema nervioso central aumentando la vigilia, y no como inductores de somnolencia.
- 4) El aumento en la cantidad de SMOR causado por el estrés por inmovilización, es anulado por los AH1S y
- 5) La presión de sueño causada por la PSSP fue igualmente anulada por la acción del antihistamínico sedante.

BIBLIOGRAFÍA

- Abe H, Honma S, Ohtsu H, Honma K. Circadian rhythms in behavior and clock gene expressions in the brain of mice lacking histidine decarboxylase. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004; 124(2): 178-87.
- Adrien J, Dugovic C, Martin P. Sleep–wakefulness patterns in the helpless rat. *Physiol Behav*. 1991; 49(2): 257-62.
- Altman JL, Whitehead WE, Rechtschaffen A. Effects of five hours of restraint stress on subsequent sleep in the rat. *Psychon Sci*. 1972; 26 (1972) 152–154.
- Ash AS, Schild HO. Receptors mediating some actions of histamine. *Br J Pharmacol*. 1966; 27: 427-439.
- Arrang JM, Garbarg M, Schwartz JC. Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H3) of histamine receptor. *Nature (London)*. 1983; 302: 1–5.
- Bárbara A, Aceves J, Arias-Montaña JA. Histamine H1 receptors in rat dorsal raphe nucleus: pharmacological characterisation and linking to increased neuronal activity. *Brain Res*. 2002; 954(2): 247-55.
- Bassano JL, Caille EJ. Effects of two antihistaminic compounds (mequitazine, dexchlorpheniramine) on sleep. Sleep distortion by antihistaminics. *Waking Sleeping*. 1979; 3(1): 57-61.
- Bender BG, Berning S, Dudden R, Milgrom H, Tran ZV. Sedation and performance impairment of diphenhydramine and second-generation antihistamines: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111(4): 695-6.
- Black JW, Duncan WAM, Durant CJ, Ganellin CR, Parsons EM. Definition and antagonism of histamine H2-receptors. *Nature (Lond.)*. 1972; 236: 385–390.
- Borbély A, Tobler I. Endogenous sleep-promoting substances and sleep regulation. *Physiol Rev*. 1989; 69: 605-670.
- Boyle J, Eriksson M, Stanley N, Fujita T, Kumagi Y. Allergy medication in Japanese volunteers: treatment effect of single doses on nocturnal sleep architecture and next day residual effects. *Curr Med Res Opin*. 2006; 22(7): 1343-51.
- Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine. *Prog Neurobiol*. 2001 Apr; 63(6): 637-72.
- Cespuglio R, Houdouin F, Oulerich M, Mansari E, Jouvet M. Axonal and somato-dendritic modalities of serotonin release: their involvement in sleep preparation, triggering and maintenance. *J Sleep Res*. 1992; 1(3): 150-156.
- Cirillo VJ, Tempero KF. Pharmacology and therapeutic use of antihistamines. *Am J Hosp Pharm*. 1976; 33(11): 1200-7.
- Clarke CH, Nicholson AN. Performance studies with antihistamines. *Br J Clin Pharmacol*. 1978; 6(1): 31-5.
- Cohen HB, Dement WC. Sleep: changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of 'paradoxical' phase. *Science*. 1965; 150 (1965): 1318–19.
- Cote NK, Harrington ME. Histamine phase shifts the circadian clock in a manner similar to light. *Brain Res*. 1993; 613(1): 149-51.
- Craig TJ, McCann JL, Gurevich F, Davies MJ. The correlation between allergic rhinitis and sleep disturbance. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 114(5 Suppl): S139-45.
- Depoortere H, Decobert M, Granger P, Francon D. Mizolastine, a novel selective histamine H1 receptor antagonist: lack of sedative potential on the EEG in the rodent. *Neuropsychobiology*. 1995; 32(4): 214-21.
- Doi T, Sakata T, Yoshimatsu H, Machidori H, Kurokawa M, Jayasekara LA, Niki N. Hypothalamic neuronal histamine regulates feeding circadian rhythm in rats. *Brain Res*. 1994; 641(2): 311-8.

- Douglas, W W. Autacoids. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL (editors). Goodman & Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics. 11th ed. New York ; McGraw-Hill, Medical Publishing Division, 2006.
- Dridi D, Ben Attia M, Reinberg A, Boughattas NA. Circadian rhythms in the toxic effects of the histamine antagonist cetirizine in mice. *Pathol Biol (Paris)*. 2005a; 53(4): 193-8.
- Dridi D, Boughattas NA, Aouam K, Reinberg A, Ben Attia M. Circadian time-dependent differences in murine tolerance to the antihistaminic agent loratadine. *Chronobiol Int*. 2005b; 22(3): 499-514.
- Esqueda-León E, Rojas-Zamorano JA, Jiménez-Anguiano A, Velázquez-Moctezuma J. Chlorpheniramine Effects on REM Sleep in Rats Submitted to Stress By Immobilization. 22nd Annual Meeting of the Associated Professional Sleep Societies, LLC. Baltimore, Md. June 7-12, 2008. *Sleep* 2008; 31: 0124.
- Eaton SJ, Cote NK, Harrington ME. Histamine synthesis inhibition reduces light-induced phase shifts of circadian rhythms. *Brain Res*. 1995; 695(2): 227-30.
- Ferguson BJ. Influences of allergic rhinitis on sleep. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004; 130(5): 617-29.
- Fernández-Novoa L, Cacabelos R. Histamine function in brain disorders. *Behav Brain Res*. 2001; 124(2): 213-33.
- Fink M, Irwin P. CNS effects of the antihistamines diphenhydramine and terfenadine (RMI 9918). *Pharmakopsychiatr Neuropsychopharmakol*. 1979; 12(1): 35-44.
- Fisher L, Ghaffari G, Davies M, Craig T. Effects of poor sleep in allergic rhinitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2005; 5(1): 11-6.
- Fradda P, Fratta W. Stress-induced sleep deprivation modifies corticotropin releasing factor (CRF) levels and CRF binding in rat brain and pituitary. *Pharmacol Res*. 1997; 35: 443-6.
- Friedman AH, Walker CA. Circadian rhythms in rat mid-brain and caudate nucleus biogenic amine levels. *J Physiol*. 1968; 197(1): 77-85.
- Friedman AH, Walker CA. Rat brain amines, blood histamine and glucose levels in relationship to circadian changes in sleep induced by pentobarbitone sodium. *J Physiol*. 1969; 202(1): 133-46.
- Fujisaki Y, Itoh Y, Oishi R. In vivo evidence for a lack of central effect of ebastine, an antihistaminic agent, in rats: a microdialysis study. *Jpn J Pharmacol*. 2002; 90(4): 353-6.
- Golightly LK, Greos LS. Second-generation antihistamines: actions and efficacy in the management of allergic disorders. *Drugs*. 2005; 65(3): 341-84.
- Haas H, Panula P. The role of histamine and the tuberomammillary nucleus in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2003; 4(2): 121-30.
- Halperin JM, Miller D, Iorio LC. Sleep-inducing effects of three hypnotics in a new model of insomnia in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1981; 14(6): 811-4.
- Hill SJ, Ganellin CR, Timmerman H, Schwartz JC, Shankley NP, Young JM, Schunack W, Levi R, Haas HL. International Union of Pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors. *Pharmacol Rev*. 1997; 49(3): 253-78.
- Hindmarch I, Parrott AC. A repeated dose comparison of the side effects of five antihistamines on objective assessments of psychomotor performance, central nervous system arousal and subjective appraisals of sleep and early morning behaviour. *Arzneimittelforschung*. 1978; 28(3): 483-6.
- Hofstra CL, Desai PJ, Thurmond RL, Fung-Leung WP. Histamine H4 receptor mediates chemotaxis and calcium mobilization of mast cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 305(3): 1212-21.
- Huang ZL, Qu W, Wei-Dong Li W, Mochizuki T, Eguchi N, Watanabe T, Urade Y, Osamu Hayaishi O. Arousal effect of orexin A depends on activation of the histaminergic system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98(17): 9965-70.

- Huang ZL, Mochizuki T, Qu WM, Hong ZY, Watanabe T, Urade Y, Hayaishi O. Altered sleep-wake characteristics and lack of arousal response to H3 receptor antagonist in histamine H1 receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103(12): 4687-92.
- Inoue I, Yanai K, Kitamura D, Taniuchi I, Kobayashi T, Niimura K, Watanabe T, Watanabe T. Impaired locomotor activity and exploratory behavior in mice lacking histamine H1 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996; 93(23): 13316-20.
- Ishiguro N, Nozawa T, Tsujihata A, Saito A, Kishimoto W, Yokoyama K, Yotsumoto T, Sakai K, Igarashi T, Tamai I. Influx and efflux transport of H1-antagonist epinastine across the blood-brain barrier. *Drug Metab Dispos*. 2004; 32(5): 519-24.
- Itowi N, Yamatodani A, Nagai K, Nakagawa H, Wada H. Effects of histamine and alpha-fluoromethylhistidine injections on circadian phase of free-running rhythms. *Physiol Behav*. 1990; 47(3): 549-54.
- Itowi N, Yamatodani A, Kiyono S, Hiraiwa ML, Wada H. Effect of histamine depletion on the circadian amplitude of the sleep-wakefulness cycle. *Physiol Behav*. 1991; 49(3): 643-6.
- Jacobs EH, Yamatodani A, Timmerman H. Is histamine the final neurotransmitter in the entrainment of circadian rhythms in mammals? *Trends in Pharmacol Sci*. 2000; 21: 293-8.
- Jouvet D, Vimont E, Delorme F, Jouvet M. Étude de la privation de PS deprivation on the organism. sélective de la phase paradoxale de sommeil chez le chat. *Compt Rend Soc Biol*. 1964; 158 (1964) 756-759.
- Kakumanu S, Glass C, Craig T. Poor sleep and daytime somnolence in allergic rhinitis: significance of nasal congestion. *Am J Respir Med*. 2002; 1(3): 195-200.
- Kamei C, Ohuchi M, Sugimoto Y, Okuma C. Mechanism responsible for epileptogenic activity by first-generation H1-antagonists in rats. *Brain Res*. 2000; 887: 183-186.
- Kaneko Y, Shimada K, Saitou K, Sugimoto Y, Kamei C. The mechanism responsible for the drowsiness caused by first generation H1 antagonists on the EEG pattern. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2000; 22(3): 163-8.
- Karamanakos PN. Can chlorpheniramine cause serotonin syndrome?. *Singapore Med J*. 2007; 48(5): 482.
- Karamanakos PN, Pappas P, Marselos M. Involvement of the brain serotonergic system in the locomotor stimulant effects of chlorpheniramine in Wistar rats: implication of postsynaptic 5-HT1A receptors. *Behav Brain Res*. 2004 Jan 5; 148(1-2): 199-208.
- Kiviranta T, Tuomisto L, Airaksinen EM. Histamine in cerebrospinal fluid of children with febrile convulsions. *Epilepsia*. 1995; 36(3): 276-80.
- Koehl M, Bouyer JJ, Darnaudéry M, Le Moal M, Mayo W. The effect of restraint stress on paradoxical sleep is influenced by the circadian cycle. *Brain Res*. 2002; 937(1-2): 45-50.
- Labrecque G, Bureau JP, Reinberg AE. Biological rhythms in the inflammatory response and in the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Pharmacol Ther*. 1995; 66(2): 285-300.
- Lecklin A, Tuomisto L. The blockade of H1 receptors attenuates the suppression of feeding and diuresis induced by inhibition of histamine catabolism. *Pharmacol Biochem Behav*. 1998; 59(3): 753-8.
- Lin JS. Brain structures and mechanisms involved in the control of cortical activation and wakefulness, with emphasis on the posterior hypothalamus and histaminergic neurons. *Sleep Med Rev*. 2000; 4(5): 471-503.
- Lin JS, Sakai K, Vanni-Mercier G, Arrang JM, Garbarg M, Schwartz JC, Jouvet M. Involvement of histaminergic neurons in arousal mechanisms demonstrated with H3-receptor ligands in the cat. *Brain Res*. 1990; 523(2): 325-30.

- Liou SY, Shibata S, Yamakawa K, Ueki S. Inhibitory and excitatory effects of histamine on suprachiasmatic neurons in rat hypothalamic slice preparation. *Neurosci Lett*. 1983; 41(1-2): 109-13.
- Lourenzi VPM, Gabriel Jr A, Nunes Jr G, Atra E, Tufik S. REM sleep deprivation and social isolation accelerate autoimmune disease in mice. *Sleep Res*. 1993; 22: 338.
- Mammoto T, Yamamoto Y, Kagawa K, Hayashi Y, Mashimo T, Yoshiya I, Yamatodani A. Interactions between neuronal histamine and halothane anesthesia in rats. *J Neurochem*. 1997; 69(1): 406-11.
- Martinez-Mir I, Estan L, Rubio E, Morales-Olivas FJ. Antihistaminic and anticholinergic activities of mequitazine in comparison with clemizole. *J Pharm Pharmacol*. 1988; 40(9): 655-6.
- Marzanatti M, Monopoli A, Trampus M, Ongini E. Effects of nonsedating histamine H1-antagonists on EEG activity and behavior in the cat. *Pharmacol Biochem Behav*. 1989; 32(4): 861-6.
- Mattila MJ, Paakkari I. Variations among non-sedating antihistamines: are there real differences? *Eur J Clin Pharmacol*. 1999; 55(2): 85-93.
- McLeod RL, Mingo G, O'Reilly S, Ruck LA, Bolser DC, Hey JA. Antitussive action of antihistamines is independent of sedative and ventilation activity in the guinea pig. *Pharmacology*. 1998; 57(2): 57-64.
- Michael H. Smolensky PhDa, Alain Reinberg MDb and Gaston Labrecque PhDc . Twenty-four hour pattern in symptom intensity of viral and allergic rhinitis: Treatment implications. *Journal of Allergy and Clinical Immunol*. 1995; 95(1), Supplement 1: 1084-96.
- Miller DB, O'Callaghan JP. The pharmacology of wakefulness. *Metabol Clin Exp*. 2006; 55 (Suppl 2): S13-S19.
- Mochizuki T, Yamatodani A, Okakura K, Horii A, Inagaki N, Wada H. Circadian rhythm of histamine release from the hypothalamus of freely moving rats. *Physiol Behav*. 1992; 51(2): 391-4.
- Monnier M, Fallert M, Battacharya IC. The waking action of histamine. *Experientia*. 1967 Jan 15; 23(1): 21-2.
- Monti JM. Involvement of histamine in the control of the waking state. *Life Sci*. 1993; 53(17): 1331-8.
- Monti JM, Pellejero T, Jantos H. Effects of H1- and H2-histamine receptor agonists and antagonists on sleep and wakefulness in the rat. *J Neural Transm*. 1986; 66(1): 1-11.
- Nicholson AN, Pascoe PA, Stone BM. Histaminergic systems and sleep. Studies in man with H1 and H2 antagonists. *Neuropharmacology*. 1985; 24(3): 245-50.
- Nunes GP, Tufik S. Validation of the modified multiple platform method (MMP) of paradoxical sleep deprivation in rats, *Sleep Res*. 22 (1994) 339.
- Okakura-Mochizuki K, Mochizuki T, Yamamoto Y, Horii A, Yamatodani A. Endogenous GABA modulates histamine release from the anterior hypothalamus of the rat. *J Neurochem*. 1996; 67(1): 171-6.
- Okamura N, Yanai K, Higuchi M, Sakai J, Iwata R, Ido T, Sasaki H, Watanabe T, Itoh M. Functional neuroimaging of cognition impaired by a classical antihistamine, d-chlorpheniramine. *Br J Pharmacol*. 2000; 129(1): 115-23.
- Palma BD, Suchecki D, Tufik S. Differential effects of acute cold and footshock on the sleep of rats. *Brain Res*. 2000; 861(1):97-104.
- Panula P, Pirvola U, Auvinen S, Airaksinen MS. Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience*. 1989; 28(3): 585-610.
- Parmentier R, Ohtsu H, Djebbara-Hannas Z, Valatx JL, Watanabe T, Lin JS. Anatomical physiological, and pharmacological characteristics of histidine decarboxylase knock out mice evidence for the role of brain histamine in behavioral and sleep wake control. *J Neurosci*. 2002; 22(17): 7695-711.

- Passalacqua G, Scordamaglia A, Ruffoni S, Parodi MN, Canonica GW. Sedation from H1 antagonists: evaluation methods and experimental results. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 1993; 21(2): 79-83.
- Polat C. Circadian variation in the structure of mast cells. *Acta Anat (Basel)*. 1980; 108(4): 443-5.
- Porkka-Heiskanen T, Tuomisto L, Ylinen M, Stenberg D. The effect of REM sleep deprivation on histamine concentrations in different brain areas. *Life Sci*. 1994; 54(22): 1719-26.
- Prast H, Dietl H, Philippu A. Pulsatile release of histamine in the hypothalamus of conscious rats. *J Auton Nerv Syst*. 1992; 39(2): 105-10.
- Prell GD, Green JP. Histamine as a neuroregulator. *Ann. Rev. Neurosci*. 1986. 9: 209-54.
- Rampin C, Cespuglio R, Chastrette N, Jouvet M. Immobilization stress induces a paradoxical sleep rebound in rat. *Neurosci. Lett*. 1991; 126 : 113–118.
- Reinberg A, Gervais P, Levy F, Smolensky M, Del Cerro L, Ugolini C. Circadian and circannual rhythms of allergic rhinitis: An epidemiologic study involving chronobiologic methods. *J Allergy Clin Immunol*. 1988; 81(1): 51-62.
- Reinberg A, Sidi E. Circadian changes in the inhibitory effects of an antihistaminic drug in man. *J Invest Dermatol*. 1966; 46(4): 415-9.
- Reinberg A, Zagula-Mally Z, Ghata J, Halberg F. Circadian reactivity rhythm of human skin to house dust, penicillin, and histamine. *J Allergy*. 1969; 44(5): 292-306.
- Rickels K, Morris RJ, Newman H, Rosenfeld H, Schiller H, Weinstock R. Diphenhydramine in insomniac family practice patients: a double-blind study. *J Clin Pharmacol*. 1983; 23(5-6): 234-42.
- Rojas-Zamorano JA, Esqueda León E, Mendoza-Meléndez MA, Jiménez-Anguiano A, Cintra-McGlone L, Velázquez-Moctezuma J. El Efecto de Fármacos Antihistamínicos sobre la Estructura del Patrón de Sueño Depende de Variaciones Circádicas. XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Querétaro, Qro. Septiembre 4 al 8, 2006.
- Rojas-Zamorano JA, Esqueda-León E, Quintanar-Stephano A, Velázquez-Moctezuma J. Estrés y Sueño en Ratas Hipofisectomizadas. L Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas; Puebla, Pue. Septiembre 9 al 13, 2007.
- Rojas-Zamorano JA, Esqueda-León E, Jiménez-Anguiano A, Velázquez-Moctezuma J. Los Antihistamínicos H1 Suprimen el Rebote de Sueño MOR Cuando se Aplican Después de la Privación Selectiva de Sueño Paradójico. LI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas; Mérida, Yuc. Septiembre 9 al 13, 2007.
- Rojas-Zamorano JA, Esqueda-León E, Quintanar-Stephano A, Velázquez-Moctezuma J. Stress and Sleep in Hypophysectomized Rats. 22nd Annual Meeting of the Associated Professional Sleep Societies, LLC. Baltimore, Md. June 7-12, 2008. *Sleep* 2008; 31: 0065.
- Rojas-Zamorano JA, Esqueda-Leon E, Jimenez-Anguiano A, Cintra-McGlone L, Mendoza Melendez MA, Velazquez Moctezuma J. The H1 histamine receptor blocker, chlorpheniramine, completely prevents the increase in REM sleep induced by immobilization stress in rats. *Pharmacol Biochem and Behav*. 2009; 91: 291–4.
- Saitou K, Kaneko Y, Sugimoto Y, Chen Z, Kamei C. Slow wave sleep-inducing effects of first generation H1-antagonists. *Biol Pharm Bull*. 1999; 22(10): 1079-82.
- Sangalli BC. Role of the central histaminergic neuronal system in the CNS toxicity of the first generation H1-antagonists. *Prog Neurobiol*. 1997; 52(2): 145-57.
- Schillicker E., Bekling A., Lummen G., Malinowska B, Göthert M. Mutual interaction of histamine H3-receptors and α_2 -adrenoceptors on noradrenergic terminals in mouse and rat brain cortex. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*. 1992; 345: 639–646.

- Schilicker E., Betz R, Göthert M. Histamine H₃-receptor-mediated inhibition of serotonin release in the rat brain cortex. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1988; 337: 588–590.
- Schilicker E., Fink K, Detzner M, Göthert M. Histamine inhibits dopamine release in the mouse striatum via presynaptic H₃-receptors. *J Neural Transm.* 1993; 93: 1–10.
- Schilicker E., Fink K, Hinterhaner M., Göthert M. Inhibition of noradrenaline release in the rat brain cortex via presynaptic H₃ receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1989; 340: 633–638.
- Schilicker E, Glaser T, Lümme G, Neise A, Göthert M. Serotonin and histamine receptor-mediated inhibition of serotonin and noradrenaline release in rat brain cortex under nimodipine treatment. *Neurochem Int.* 1991; 19: 437–444.
- Schilicker E., Kathman M, Bitschnau H, Marr I., Reidemeister S, Stark H, Schunack W. Potencies of antagonists chemically related to iodoproxyfan at histamine H₃-receptors in mouse brain cortex and guinea-pig ileum: evidence for H₃-receptor heterogeneity? *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1996; 353: 482–488.
- Schilicker E., Pertz H, Bitschnau H, Purand K, Kathamann M, Elz S, Schunack W. Effects of iodoiproxyfan, a potent and selective histamine H₃ receptor antagonist, on α_2 and 5-HT₃ receptors. *Inflamm Res.* 1995; 44: 296–300.
- Schwartz JC, Arrang JM, Garbarg M, Pollard H, Ruat M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol Rev.* 1991; 71(1):1-51.
- Seabra MVL, Tufik S. Sodium diclofenac inhibits hyperthermia induced by paradoxical sleep deprivation: the possible participation of prostaglandins. *Physiol Behav.* 1993; 54: 923–926.
- Servos P, Barke KE, Hough LB, Vanderwolf CH. Histamine does not play an essential role in electrocortical activation during waking behavior. *Brain Res.* 1994 Feb 4; 636(1): 98-102.
- Shigemoto Y, Shinomiya K, Mio M, Azuma N, Kamei C. Effects of second-generation histamine H₁ receptor antagonists on the sleep-wakefulness cycle in rats. *Eur J Pharmacol.* 2004 28; 494(2-3): 161-5.
- Siegel J, Gordon PT. Paradoxical Sleep: Deprivation in the Cat. *Science.* 1965; 148 (3672): 978-980.
- Slater JW. Second-generation antihistamines: a comparative review. *Drugs.* 1999; 57(6): 1033-4.
- Smolensky MH, Reinberg AE, Martin RJ, Haus E. Clinical chronobiology and chronotherapeutics with applications to asthma. *Chronobiol Int.* 1999; 16(5): 539-63.
- Starbuck VN, Kayo GG, Craig Plantenberg R, Lin CS, Zielinski BA. Functional Magnetic Resonance Imaging Reflects Changes in Brain Functioning with Sedation. *Hum Psychopharmacol Clin Exp.* 2000; 15: 613-8.
- Stehle J. Effects of histamine on spontaneous electrical activity of neurons in rat suprachiasmatic nucleus. *Neurosci Lett.* 1991; 130(2): 217-20.
- SucHECKI D, Palma BD, Tufik S. Sleep rebound in animals deprived of paradoxical sleep by the modified multiple platform method. *Brain Res.* 2000; 875: 14–22.
- Takeuchi E. Polygraphical study on the wakefulness-sleep cycle of the rat. *Shinrigaku Kenkyu.* 1970; 41(5): 248-56.
- Tasaka K, Chung YH, Sawada K, Mio M. Excitatory effect of histamine on the arousal system and its inhibition by H₁ blockers. *Brain Res Bull.* 1989; 22(2): 271-5.
- Tokunaga S, Takeda Y, Shinomiya K, Hirase M, Kamei C. Effects of some H₁-antagonists on the sleep-wake cycle in sleep-disturbed rats. *J Pharmacol Sci.* 2007; 103(2): 201-6. Epub 2007 Feb 8.
- Tuomisto L, Lozeva V, Valjakka A, Lecklin A. Modifying effects of histamine on circadian rhythms and neuronal excitability. *Behav Brain Res.* 2001; 124(2): 129-35.

- Van Hulzen ZJM, Coenen AML. Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in rats. *Physiol. Behav.* 1981; 27: 741–744.
- Vanni-Mercier G, Sakai K, Jouvet M. Specific neurons for wakefulness in the posterior hypothalamus in the cat. *C R Acad Sci III.* 1984; 298(7): 195-200.
- Vázquez-Palacios G, Retana-Márquez S, Bonilla-Jaime H, Velázquez-Moctezuma J. Stress-induced REM sleep increase is antagonized by naltrexone in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2004; 171(2):186-90. Epub 2003 Nov 25.
- Watanabe T, Yanai K. Studies on Functional Roles of the Histaminergic Neuron System by Using Pharmacological Agents, Knockout Mice and Positron Emission Tomography. *Tohoku J Exp Med.* 2001; 195: 197-217.
- Wauquier A, Niemegeers CJ. Effects of chlorpheniramine, pyrilamine and astemizole on intracranial self-stimulation in rats. *Eur J Pharmacol.* 1981a; 72(2-3): 245-8.
- Wauquier A, Van den Broeck WA, Awouters F, Janssen PA. A comparison between astemizole and other antihistamines on sleep-wakefulness cycles in dogs. *Neuropharmacology.* 1981b; 20 (9): 853-9.
- Wauquier W. CNS activity of antihistaminics. *Z Hautkr.* 1985; 60 Suppl 1: 23-8.
- Welch MJ. H1-antihistamines and the central nervous system. *Clin Allergy Immunol.* 2002; 17: 337-88.
- Yanai K, Son LZ, Endou M, Sakurai E, Nakagawasai O, Tadano T, Kisara K, Inoue I, Watanabe T, Watanabe T. Behavioural characterization and amounts of brain monoamines and their metabolites in mice lacking histamine H1 receptors. *Neuroscience.* 1998; 87(2): 479-87.