



**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**  
Facultad de Medicina



**Instituto de Fisiología**  
Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor

**Evaluación del efecto del pitolisant en el ciclo sueño-  
vigilia de la rata *taiep***

Tesis para la obtención del grado:

Licenciatura en Biomedicina

*Presenta:*

*Dahab América Kuri López*

**Directora de tesis:**  
Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

**Co-director de tesis:**  
Dr. José Ramón Eguibar Cuenca



**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**  
Facultad de Medicina



**Instituto de Fisiología**  
Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor

**Evaluación del efecto del pitolisant en el ciclo sueño-  
vigilia de la rata *taiep***

Tesis para la obtención del grado:

Licenciatura en Biomedicina

*Presenta:*

*Dahab América Kuri López*

---

**Directora de tesis:**

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

---

**Co-director de tesis:**

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

**Heroica Puebla de Zaragoza, Puebla.**

**Mayo, 2025**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, a la Facultad de Medicina y al Instituto de Fisiología por haberme permitido realizar mis estudios universitarios y poder concluir mi proyecto de tesis dentro de sus instalaciones.

Agradezco a la Dra. Carmen Cortés y al Dr. José Ramón Eguibar por haberme recibido y permitido realizar mi proyecto de tesis en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y el Control Motor. Les agradezco enormemente su apoyo, la confianza, la paciencia y las enseñanzas durante mi estancia en el laboratorio. También les agradezco por la nueva familia que forme en este transcurso.

Agradezco a los integrantes del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor: a la M. C. Araceli Ugarte por su apoyo y guía en los procesos experimentales realizados en este trabajo. A mis queridos amigos y colegas, que me alegraron los días, redujeron las penas, por su infinito apoyo y cariño.

## **DEDICATORIA**

Sí estas leyendo esto, es porque fuiste parte fundamental de mi red de apoyo durante este proceso.

Quiero dedicarte y agradecerte por tu incondicional apoyo, fe y confianza, que me acompañaron a lo largo de mi proceso de titulación. No importa si eres mi padre o madre, un miembro de mi familia, mi amigo o mi compañero; tu ayuda, grande o pequeña me permitió seguir adelante. Por brindarme una cálida sonrisa, por mostrarme comprensión o incluso por no abrumarme al preguntarme por mi futuro, cuando me sentía tan pérdida y lejos de mis metas, tu ayuda y cariño me han ayudado a recordar mis sueños y mi esencia. Pero a quien más me gustaría dedicarle este esfuerzo y dedicación es a mí misma, a la joven que luchó y enfrentó incontables veces a sus demonios y miedos, que decidió enfrascarse en su educación y, a pesar de las distintas dificultades que la vida ha interpuesto, me sigue demostrando la resiliencia y la capacidad para lograr nuestros objetivos y sueños. Así que, mi querida Dahab América, gracias por seguir enseñándome que, aunque el frío queme y los miedos muerdan, este es y siempre será el mejor momento...

# INDICE

AGRADECIMIENTOS .....	1
DEDICATORIA .....	2
1. RESUMEN. ....	5
2. INTRODUCCIÓN. ....	6
2.1.1. Cronobiología. ....	6
2.1.2. Ritmos biológicos. ....	7
2.1.3. Ciclo sueño-vigilia. ....	9
2.1.3.1. El estado de vigilia. ....	11
2.1.3.2. El estado de sueño. ....	11
2.1.3.2.1. El sueño de ondas lentas. ....	14
2.1.3.2.2. El sueño de movimientos oculares rápidos. ....	16
2.1.4. El sueño en diferentes etapas de la vida. ....	17
2.1.5. El electroencefalograma.....	19
3. ANTECEDENTES.....	22
3.1. ANTECEDENTES GENERALES.....	22
3.1.1. Neuroanatomía del ciclo sueño-vigilia. ....	22
3.1.2. Neuroquímica del sueño.....	26
3.1.3. Impacto del sueño en la salud física y mental. ....	31
3.1.4. Trastornos del sueño.....	32
3.1.4.1. Clasificación de los trastornos del sueño. ....	33
3.1.4.2. Narcolepsia.....	36
3.1.4.2.1. Síntomas de la narcolepsia.....	37
3.1.5. El rol de la histamina en el sistema nervioso central. ....	39
3.1.5.1. Receptores de histamina. ....	41
3.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS. ....	43
3.2.1. La influencia de la histamina en la narcolepsia. ....	43
3.2.2. El pitolisant como tratamiento de la narcolepsia. ....	43
3.2.3. La rata <i>taiep</i> como un modelo de narcolepsia-cataplejía. ....	45
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. ....	48
5. JUSTIFICACIÓN.....	49
6. HIPÓTESIS. ....	50
7. OBJETIVOS.....	50

7.1.	Objetivo general.....	50
7.2.	Objetivo específico.....	50
8.	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>51</b>
8.1.	Sujetos.....	51
8.2.	Cirugía estereotáxica.....	51
8.3.	Habitación pre-registro.....	52
8.4.	Preparación y administración del fármaco. ....	53
8.5.	Registro electroencefalográfico. ....	53
8.6.	Evaluación del registro electroencefalográfico. ....	54
8.7.	Análisis estadístico. ....	56
9.	<b>RESULTADOS. ....</b>	<b>57</b>
9.1.	Latencia.....	57
9.2.	Vigilia.....	57
9.3.	Sueño de ondas lentas. ....	60
9.4.	Sueño con movimientos oculares rápidos.....	63
9.5.	Episodios de inmovilidad.....	66
9.6.	Distribución temporal de las etapas del ciclo sueño-vigilia. ....	68
10.	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>73</b>
11.	<b>CONCLUSIONES. ....</b>	<b>78</b>
12.	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>79</b>

## 1. RESUMEN.

La narcolepsia es un trastorno del sueño que se caracteriza por somnolencia diurna excesiva, cataplejía, parálisis del sueño y una corta latencia al sueño con movimientos oculares rápidos (MOR). La rata *taiep* es un modelo de narcolepsia que presenta patrones de sueño fragmentado. El pitolisant es el primer antagonista del receptor H3 de histamina aprobado por la clínica con efectos anticatapléjicos y promotores de la vigilia. El objetivo del estudio fue determinar el efecto del fármaco pitolisant en el ciclo sueño-vigilia de la rata *taiep* macho adulto.

Se utilizaron seis ratas *taiep* macho de 6 meses de edad a las que se les realizó una cirugía estereotáxica para la colocación de electrodos para registro de electroencefalograma (EEG), electromiograma (EMG) y electrooculograma (EOG). Se realizaron cuatro registros de EEG de 12 horas de duración: un control y posteriormente utilizando dosis de 1,3 y 10 mg/Kg de pitolisant por vía intraperitoneal.

Nuestros resultados muestran que la dosis de 10 mg/Kg incrementa la duración de la vigilia ( $p < 0.01$ ), disminuye la duración del sueño de ondas lentas ( $p < 0.01$ ) y del sueño MOR y retrasa la latencia al sueño, limitado a las primeras horas tras la administración del fármaco. Las dosis más bajas del pitolisant también muestran efectos similares a los observados en la dosis de 10 mg/Kg, aunque son de menor duración e intensidad.

En conclusión, la administración del pitolisant en la rata *taiep* un modelo de narcolepsia-cataplejía modula el ciclo sueño-vigilia, mostrando un efecto dosis-dependiente con mayores efectos a dosis altas de pitolisant; lo que podría favorecer el tratamiento en pacientes con narcolepsia.

## 2. INTRODUCCIÓN.

### 2.1.1. Cronobiología.

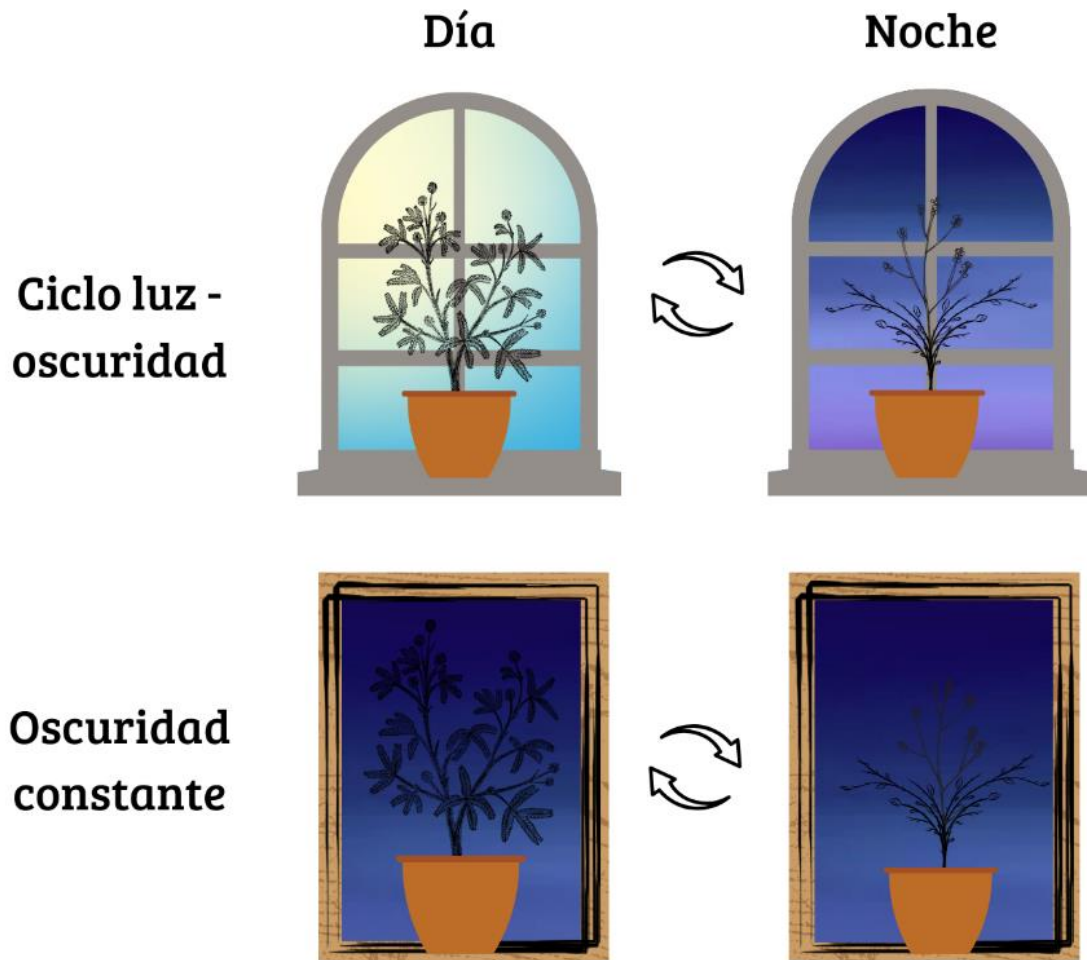
La vida en nuestro planeta ha sido regida por distintos aspectos, desde el ambiente hasta su propia estructura, pero un factor tan importante e imperceptible es el mismo tiempo. El tiempo ha sido una variable fundamental que ha permitido a las distintas formas de vida adaptarse, perfeccionarse y evolucionar; logrando permanecer hasta nuestros días.

La cronobiología cuyo término proviene del griego: *kronos* (tiempo), *bios* (vida) y *logos* (estudio), fue acuñado por el fisiólogo Franz Halberg en la década de 1950, la cual se encarga de estudiar los ritmos biológicos y su influencia sobre las funciones corporales (Lee et al., 2015). Esta disciplina abarca un análisis en los distintos niveles de organización - de lo molecular hasta lo conductual -, y analiza cómo estos ritmos influyen en los seres vivos. A través de este enfoque, se ha demostrado que numerosos procesos fisiológicos, bioquímicos y conductuales de los organismos son cíclicos y están influenciados por factores temporales tanto internos como ambientales (Ángeles-Castellanos et al., 2007; Ángeles-Castellanos & Escobar, 2016; Golombek, 2007).

A pesar de que los conceptos sobre la cronobiología y los ritmos biológicos comenzaron a formalizarse a mediados del siglo XX, la idea de que los fenómenos naturales son periódicos se remonta a la antigüedad. Puesto que, las civilizaciones antiguas ya reconocían la importancia de los eventos recurrentes en el transcurso de los días y los años, evidenciando la conciencia temprana sobre la influencia del tiempo en la vida (Ángeles-Castellanos et al., 2007; Golombek, 2007).

En el año de 1729 se publicó el primer experimento cronobiológico, realizado por el astrónomo francés Jean Jacques d'Ortous de Mairan. Intrigado por el comportamiento de su planta *Mimosa pudica*, cuyas hojas permanecían extendidas en el día y retraídas por la noche (Golombek, 2007; Johansson & Köster, 2019). De Mairan decidió colocar la planta en un armario completamente oscuro para descartar la influencia de la luz solar. Sorprendentemente las hojas de su planta

Mimosa mantuvieron el mismo patrón de movimiento, abriendo y cerrando sus hojas incluso en la ausencia de luz. Dicho experimento, permitió demostrar por primera vez que los ritmos biológicos son intrínsecos y capaces de mantenerse aún en ausencia de las señales temporales del ambiente exterior (véase Figura 1; (Golombek, 2007).

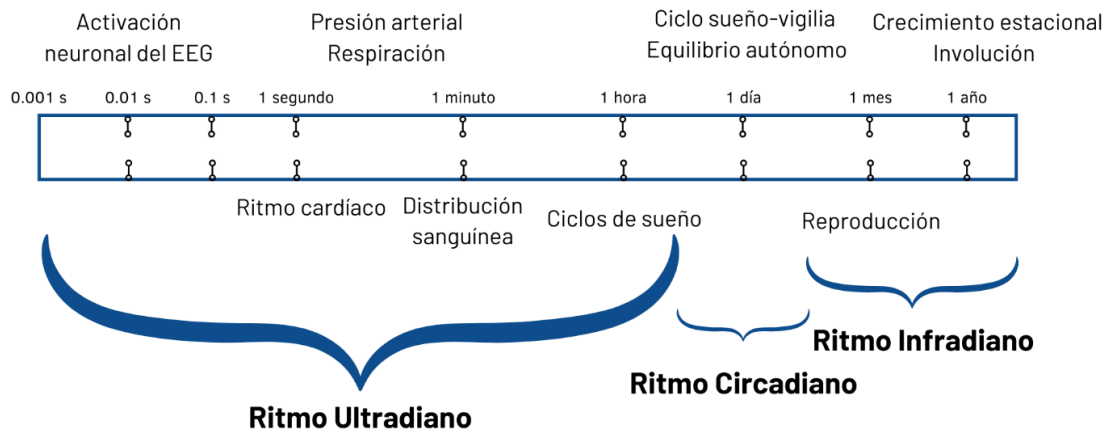


**Figura 1. El experimento de De Mairan.** Representación esquemática del experimento de De Mairan, que demostró por primera vez la existencia de ritmos circadianos endógenos. La planta *Mimosa pudica* fue expuesta a un ciclo luz-oscuridad natural, en donde las hojas muestran un patrón al irse moviendo con la luz solar. Sin embargo, al exponer a la planta a una oscuridad constante, las hojas continúan presentando el mismo ritmo en sus movimientos. Modificado de Golombek, 2007.

### 2.1.2. Ritmos biológicos.

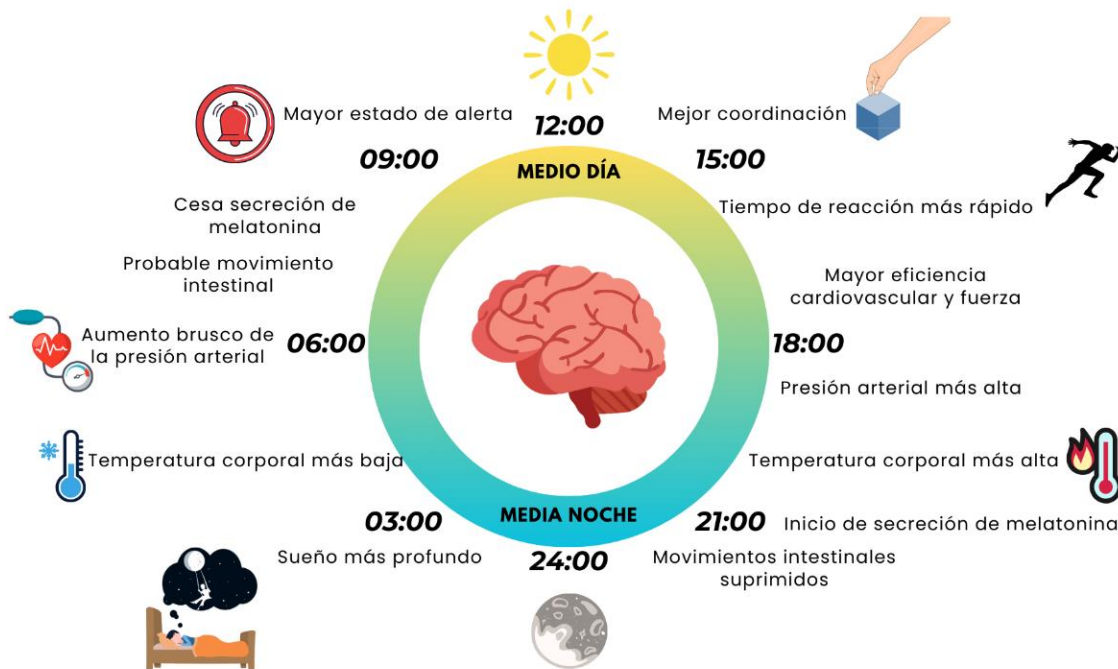
Los seres vivos, vegetales o animales han evolucionado y adaptado sus funciones a ritmos que se puedan sincronizar con los cambios que se presentan día con día. Por lo tanto, se define al ritmo biológico como la variación regular de una función

orgánica relacionada con el curso del tiempo (Saavedra Torres et al., 2013). De acuerdo con las variaciones biológicas del tiempo, existen diferentes ritmos biológicos en los cuales podemos encontrar: circadiano; periodo alrededor de 24 horas, ultradiano; periodo menor a 20 horas, o infradiano; periodo mayor a 28 horas; siendo más comunes los ritmos circadianos (véase Figura 2; (Reinberg & Ashkenazi, 2003; Saavedra Torres et al., 2013).



**Figura 2. Ritmos biológicos.** Representación esquemática de los ritmos biológicos en función de su periodicidad, diferenciándolas en ritmos ultradianos, circadianos e infradianos. El diagrama se organiza en una escala de tiempo que abarca desde los milisegundos hasta un año, incluyendo ejemplos específicos de funciones biológicas o fenómenos naturales correspondientes a cada tipo de ritmo. Modificado de Lehnertz, Rings y Bröhl, 2021.

Los ritmos circadianos son innatos, poseen un origen genético y están controlados por relojes biológicos (oscilador o marcapasos). Estos relojes biológicos se calibran y ponen en cero a través de las señales ambientales como las señales fóticas (amanecer y anochecer) y señales no fóticas (actividad y descanso o ruido y silencio; (Reinberg & Ashkenazi, 2003). Dichos factores ambientales periódicos se denominan “zeitgebers” (del alemán indicador de tiempo); los cuales permiten sincronizar a los ritmos circadianos con el entorno externo. En este sentido, los patrones de luz generados por la rotación en la Tierra de 24 horas proporcionan la señal dominante para ser ajustados (véase Figura 3; (Foster, 2020).



**Figura 3. Ritmo circadiano humano.** Esquema de un ritmo circadiano humano, destacando las principales funciones conductuales y fisiológicas, con su sincronización en el transcurso de las horas del día. Indicando que el cuerpo mantiene un ciclo de 24 horas, el cual se encuentra influenciado por factores internos y ambientales. Modificado de Lehnertz, Rings y Bröhl, 2021.

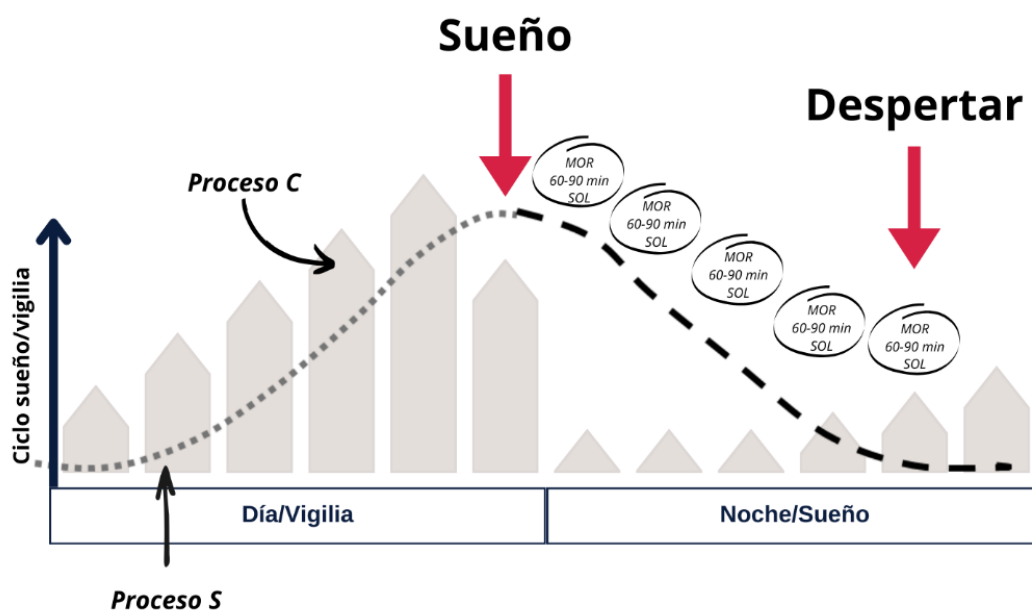
La organización del sistema circadiano está conformada por: un componente visual (integrado por fotorreceptores), estructura marcapasos (encargada de generar la señal circadiana) y vías eferentes (las cuales viajan desde el reloj biológico hasta los sistemas efectores; (Saavedra Torres et al., 2013). En los mamíferos, el sistema circadiano está ubicado en el hipotálamo, llamado núcleo supraquiasmático (NSQ), encargado de coordinar la fisiología rítmica, el comportamiento y operar como el reloj maestro (Foster, 2020).

### 2.1.3. Ciclo sueño-vigilia.

La mayoría de los seres vivos presentan ritmos de actividad y reposo, los cuales están influenciados por los ciclos de luz y oscuridad de 24 horas; y el ritmo circadiano más común es el ciclo sueño-vigilia. En los seres humanos, dicho ciclo implica un conjunto muy complejo de interacciones que involucran múltiples circuitos neuronales, neurotransmisores y hormonas, garantizando un equilibrio entre los periodos de descanso y de actividad (Foster, 2020).

El ciclo sueño-vigilia está regulado por dos impulsores endógenos: el proceso homeostático (Proceso S) y el proceso circadiano (Proceso C). Los cuales forman el modelo de sueño de “dos procesos” propuesto por Bobérly (1982); en el que se explica cómo el ciclo del sueño-vigilia se sincroniza con los ritmos naturales de la luz y oscuridad. (véase Figura 4; (Brown et al., 2012; Foster, 2020).

La hora del día determina al proceso C y la duración de la vigilia previa al denominado proceso S, ambos procesos interactúan para controlar el momento, profundidad y duración de cada etapa del sueño. Por lo tanto, al iniciar la mañana el proceso S es bajo y aumenta de forma progresiva en el transcurso del día. Mientras que el proceso C, activado por el NSQ, contrarresta al proceso S, impulsando así el mantenimiento de la vigilia durante el día. No obstante, al acercarse la noche y la hora de dormir, la actividad del proceso C desciende, permitiéndole al proceso S que se favorezca la transición al sueño (Aguirre-Navarrete, 2007; Brown et al., 2012; Foster, 2020).



**Figura 4. Modelo de sueño de “dos procesos”.** El gráfico muestra cómo el temporizador circadiano (Proceso C, barras grises) y un impulsor homeostático (Proceso S, línea punteada) interactúan para determinar el momento, la duración y la estructura del sueño. Durante el día, el proceso C mantiene la vigilia a pesar de que el proceso S promueva al sueño. A medida que avanza la noche, la intensidad del proceso S aumenta, permitiendo así la conciliación y un sueño profundo, el cual se va dissipando hacia el final del episodio de sueño. Durante el sueño, la mayoría de los seres humanos experimentan entre 4-5 ciclos de sueño con movimientos oculares rápidos (MOR) y sueño de ondas lentas (SOL). Modificado de Foster, 2020.

### **2.1.3.1. El estado de vigilia.**

La neurobiología define a la vigilia como un espectro de estados conductuales en los que un animal muestra activación motora voluntaria y responde a estímulos tanto internos como externos (Scammell et al., 2017). La vigilia puede verse alterada con respecto del tiempo, afectando la capacidad para detectar cambios relevantes e impredecibles del entorno. La vigilia, como un estado cerebral funcional permite la realización de diversas funciones cerebrales superiores, como actividades conductuales, cognitivas y emocionales (J. S. Lin, 2000; Van Schie et al., 2021).

El mantenimiento de la corteza cerebral en este estado de alta complejidad depende de la actividad convergente y divergente de una red neuronal ascendente (J. S. Lin, 2000). Esta red se extiende desde el bulbo raquídeo hasta el cerebro anterior basal, el hipotálamo posterior y los núcleos monoaminérgicos del tronco encefálico, cuyas interconexiones son clave para la activación cortical durante la vigilia (J. S. Lin, 2000). Las proyecciones de estas vías anatómicas, implicadas en la regulación y mantenimiento del estado de la vigilia, se originan en la región central del mesencéfalo dirigiéndose al tálamo y al hipotálamo por la vía dorsal; y al cerebro anterior basal y la corteza cerebral mediante la vía ventral (Scammell et al., 2017). La vía dorsal facilita el procesamiento talámico de señales relacionadas con las sensaciones, las respuestas motoras y la cognición (Scammell et al., 2017).

La vigilia también está regulada por una amplia variedad de neurotransmisores, como la noradrenalina, dopamina, acetilcolina, histamina y orexinas; cuya participación contribuye al mantenimiento de la atención y la capacidad de respuesta ante los estímulos externos (España & Scammell, 2011; J. S. Lin, 2000; Scammell et al., 2017; Van Schie et al., 2021).

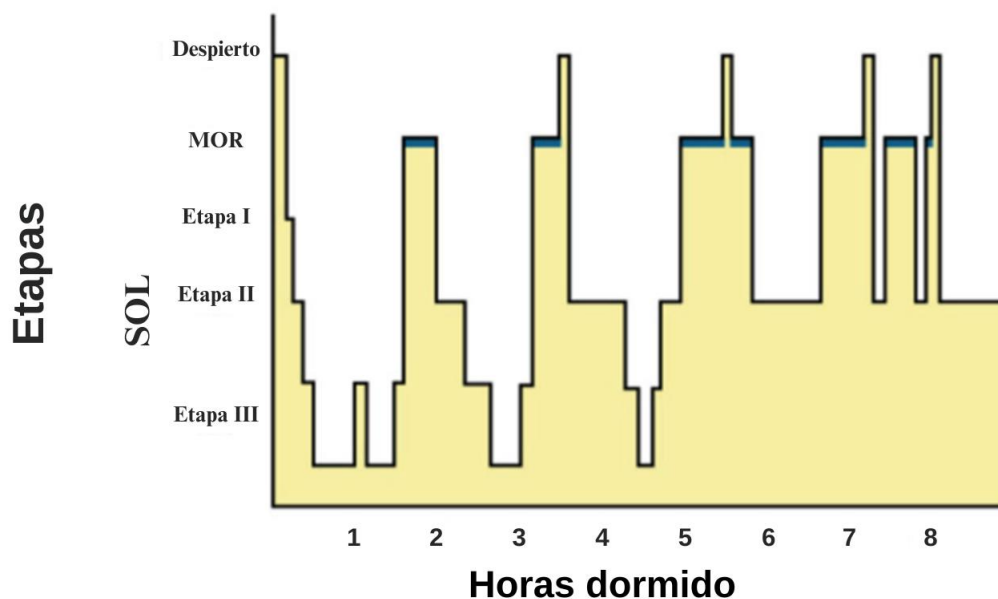
### **2.1.3.2. El estado de sueño.**

El sueño se define como un estado normal, recurrente y de disminución de la conciencia, ante la percepción de los estímulos externos en el entorno (Aguirre-Navarrete, 2007; Fabres & Moya, 2021). El estado del sueño se puede describir por medio de cuatro criterios: primero, el sueño es un periodo de inmovilidad; segundo,

la quietud es rápidamente reversible; tercero, el estado de sueño se asocia con un aumento en los umbrales de excitación; por último, el sueño es regulado de manera homeostática (Lakhiani et al., 2023).

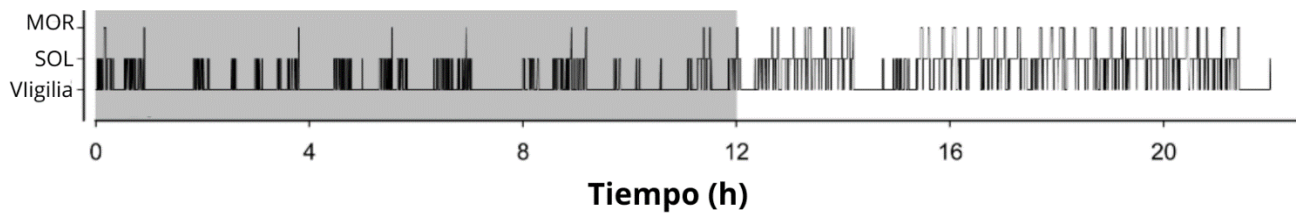
En los seres humanos, algunos de los comportamientos que caracterizan al sueño son: ojos cerrados, la posición reclinada (decúbito postural), disminución de la sensibilidad al entorno exterior y reducción de la actividad (Carskadon & Dement, 2017; Roth, 2004). En los animales, algunos duermen de pie o hasta con los ojos abiertos. Sin embargo, la principal característica que comparten todos los seres vivos es la disminución de la reactividad al medio ambiente y la reducción en la actividad motora (Benavides-Endara & Ramos-Galarza, 2019).

El sueño se caracteriza por presentar distintos grados de profundidad y características fisiológicas específicas en cada una de sus etapas (Velayos et al., 2007). El sueño se distingue en dos estadios: el sueño de ondas lentas (SOL), también conocido como “sueño profundo” y el sueño con movimientos oculares rápidos (MOR) o llamado “sueño paradójico” (Fabres & Moya, 2021; Padilla-Gil, 2023). El sueño en humanos se caracteriza por presentar 4 a 5 ciclos a lo largo de la noche que se suceden cada 90 minutos, con una transición gradual a cada una de las etapas del SOL y en cada ciclo la duración del sueño MOR incrementa progresivamente (Fabres & Moya, 2021). El primer tercio del sueño se pasa principalmente en las fases II y III del SOL y el último tercio en la fase MOR; alrededor del 5% del sueño nocturno corresponde a la vigilia (véase Figura 5; Roth, 2004).



**Figura 5. Hipnograma de un adulto sano.** Se muestra las distintas fases del sueño con respecto al tiempo en un período de 8 horas. El primer ciclo comienza en la fase SOL etapa I, con una progresión hacia la fase SOL etapa II y posteriormente a la etapa III, con un retorno a la etapa II habitualmente y seguido al primer periodo de sueño MOR, cuya duración es breve, pero se incrementa en tiempo, al acercarse al final del sueño; reflejando la arquitectura típica del sueño humano sano. Modificado de Fabres y Moya, 2021.

A diferencia de los humanos, los mamíferos pequeños, como las ratas, son animales polifásicos. Esto significa que sus periodos de actividad y descanso no están estrictamente regidos por un ciclo circadiano, por lo que pueden ocurrir tanto en el día como en la noche (Halle, 2006). En los estudios de sueño realizados en ratas, se ha observado que los periodos de vigilia frecuentemente pasan por un ciclo de SOL (sin considerar su división en etapas) hasta despertar sin episodios MOR. De igual manera, se pueden identificar episodios de vigilia relativamente breves, intercalados entre los episodios de SOL y sueño MOR, mostrando el patrón característico de actividad distribuida en la fase de luz y oscuridad (véase Figura 6; Simasko & Mukherjee, 2009). A pesar de estas diferencias en los patrones del ciclo sueño-vigilia, las distribuciones de los episodios de vigilia y sueño en ratas y ratones son similares a las de los humanos (Lo et al., 2004).



**Figura 6. Hipnograma representativo del ciclo sueño-vigilia de una rata Sprague-Dawley.** En la porción sombreada equivale a la fase de oscuridad. En esta fase se puede apreciar una mayor actividad del periodo de vigilia y actividad de la rata. En la porción iluminada equivalente a la fase de luz, se aprecia ciclos de sueño más frecuentes y un número menor de despertares prolongados, indicando la fase de reposo de las ratas y un predominio del estado de sueño. Modificado de Simasko y Mukherjee, 2009.

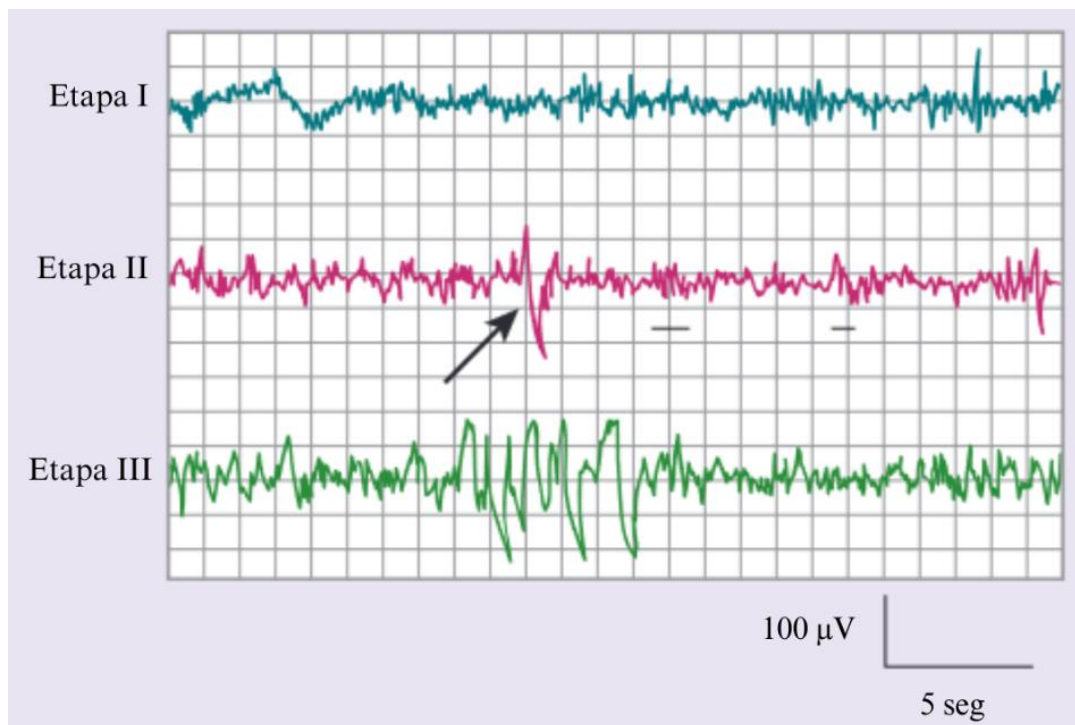
### 2.1.3.2.1. El sueño de ondas lentas.

En los humanos, el sueño de ondas lentas (SOL) representa cerca del 75-80% del tiempo total del sueño (TTS), caracterizado por un patrón en el electroencefalograma (EEG), con formas características como los husos del sueño, los complejos K y las ondas lentas de alto voltaje (véase Figura 7; Carskadon y Dement, 2017; Fabres y Moya, 2021). Durante el SOL la actividad cognitiva suele estar fragmentada y la actividad corporal se produce periódicamente conforme la persona atraviesa las etapas del SOL (Roth, 2004).

Los estadios del SOL son aproximadamente paralelos a uno continuo en profundidad del sueño, con umbrales de excitación generalmente de los más bajos a los más altos correspondientes al estadio en el que se encuentren (Carskadon & Dement, 2017). Los estadios en los que se divide son: N1 o Etapa I, somnolencia; N2 o Etapa II, sueño “ligero” y N3 o Etapa III, sueño “lento” (Fabres & Moya, 2021; Velayos et al., 2007).

La etapa I se caracteriza por la presencia de tono muscular y no hay movimientos oculares o, si los hay, son muy lentos (Fabres & Moya, 2021; Velayos et al., 2007); cuya duración va de 1 a 7 minutos, produciéndose principalmente al inicio del sueño y funciona como fase de transición a lo largo del sueño. Una persona dormida en la etapa I se despierta con facilidad, indicando que este estadio presenta un umbral de despertar bajo (Roth, 2004). Después de la etapa I, se entra a la etapa II, con una duración de entre 10 y 25 minutos. La etapa II se caracteriza por la aparición

de los husos de sueño y los complejos K en el EEG, sigue existiendo tono muscular y no hay movimientos oculares y la actividad de las ondas lentas de alto voltaje aumentan hasta convertirse en la etapa III (Fabres & Moya, 2021; Roth, 2004; Velayos et al., 2007). La etapa III presenta una actividad eléctrica baja, no hay movimientos oculares y el tono muscular está muy disminuido (Fabres & Moya, 2021; Velayos et al., 2007). Durante el primer ciclo de sueño, la duración de la etapa III es de solo unos minutos, hasta que la actividad eléctrica lenta representa más del 50% del EEG, la persona dormida permanece entre 20 y 40 minutos en el primer ciclo de sueño (Roth, 2004). En la medida en la que los estadios del SOL progresen, se requiere de un estímulo cada vez más poderoso para despertar a la persona (Contreras, 2013)



**Figura 7. Las etapas del sueño SOL.** Se muestran los tres trazados del electroencefalograma corresponden a las distintas etapas del SOL obtenidos de una voluntaria de 19 años. Cada trazado se registró a partir de una derivación de referencia (C3/A2) en un polígrafo Grass Instruments (West Warwick, RI) Modelo 7D con una velocidad de papel de 10mm/seg, una constante de tiempo de 0.3 seg y un ajuste de alta frecuencia de 12 amplitudes de 30 Hz. En la etapa I (trazo azul), se aprecia una actividad de bajo voltaje y frecuencia mixta (ondas alfa y theta); en la etapa II (trazo rosa), aparecen dos husos del sueño indicado por los guiones y un complejo K marcado por la flecha. En la etapa III (trazo verde) predominan ondas de alta amplitud y baja frecuencia (ondas delta). Modificado de Carskadon y Dement, 2017.

### **2.1.3.2.2. El sueño de movimientos oculares rápidos.**

En humanos, el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) representa entre el 20-25% del TTS y se presenta a los 90 minutos tras haberse quedado dormido. Este se caracteriza por la presencia de movimientos oculares rápidos (los ojos se mueven rápidamente de un lado a otro sin entrada visual), atonía en la mayoría de los músculos, una respiración irregular y una actividad electroencefalográfica más desincronizada y bajo voltaje (Blumberg et al., 2020; Contreras, 2013; Fabres & Moya, 2021; Velayos et al., 2007).

El sueño MOR no suele dividirse en etapas, aunque en ocasiones se distinguen los componentes fásicos y tónicos en el electroencefalograma (Carskadon & Dement, 2017). El componente fásico es controlado por el sistema simpático y se caracteriza por los movimientos oculares rápidos, contracciones musculares breves y por la variabilidad de la respiración (Contreras, 2013; Roth, 2004). El componente tónico es controlado por el sistema parasimpático y se caracteriza por la ausencia de los movimientos oculares rápidos o periodos de relativa inactividad (Contreras, 2013; Roth, 2004). Durante el sueño MOR por medio de electrodos implantados se identifica a la onda theta (4-8 Hz) como la más prominente, cuya actividad se observa en el hipocampo y dentro de un circuito neuronal del tronco encefálico que produce parálisis del sueño durante esta fase (Blumberg et al., 2020).

La actividad mental del sueño MOR humano se asocia a la ensoñación, basándose en el recuerdo de sueños vívidos tras aproximadamente el 80% de los despertares de este estado de sueño (Carskadon & Dement, 2017).

El primer periodo del sueño MOR dura unos 10 minutos y con este concluye un ciclo de sueño, iniciando un nuevo ciclo, con un ligero semi-despertar en esta transición. Conforme avanza la noche, los periodos del sueño MOR se van prolongando y los tiempos del SOL se van acortando. Tras cumplirse 4 o 5 ciclos, se puede despertar, terminando completamente la etapa de sueño (Benavides-Endara & Ramos-Galarza, 2019). El origen del sueño MOR aparentemente se localiza, desde las neuronas de la parte dorsolateral del mesencéfalo y la formación reticular pontina (Benavides-Endara & Ramos-Galarza, 2019)

#### 2.1.4. El sueño en diferentes etapas de la vida.

La edad es considerado como uno de los factores más influyentes y constantes que determina los patrones de las fases del sueño, afectando tanto a la continuidad como a su estructura (Carskadon & Dement, 2017; Roth, 2004). Por lo tanto, el sueño presenta modificaciones en función del desarrollo y madurez del individuo, presentando características propias en cada etapa de la vida (véase Tabla 1; Contreras, 2013).

- Recién nacidos y lactantes: Los recién nacidos duermen entre 14 y 18 horas diarias, mientras que los lactantes lo hacen entre 12 y 14 horas (Contreras, 2013). Durante el primer año de vida, la transición de la vigilia al sueño se realiza mayoritariamente a través del sueño MOR, también conocido como “sueño activo”, mientras que el SOL se denomina “sueño quieto” (Carskadon & Dement, 2017; Contreras, 2013). Esta alternancia cíclica entre el SOL y sueño MOR está presente desde el nacimiento, con una duración de 50 a 60 minutos por ciclo (Roth, 2004). Durante esta etapa, el sueño MOR constituye al 50% del TTS (Roth, 2004). Los husos del sueño aparecen entre la 6° y 8° semana de vida, pero las etapas del SOL se consolidan entre los 2 y 6 meses, conforme el cerebro madura (Carskadon & Dement, 2017; Roth, 2004).
- Niñez y adolescencia: En los niños en etapa escolar, el sueño nocturno tiene una duración entre 11 y 12 horas (Contreras, 2013; Fabres & Moya, 2021). A los 3 años, la proporción de sueño MOR disminuye y se estabiliza en proporciones similares a los adultos; además se describe un tipo de sueño “indeterminado o transicional”, caracterizado por patrones electroencefalográficos que no corresponden a un sueño activo o quieto, el cual desaparece gradualmente con la maduración del infante (Contreras, 2013; Roth, 2004). La proporción del sueño MOR/SOL en los niños es distribuida de forma equitativa (Contreras, 2013). En la adolescencia el sueño nocturno se reduce a 8 y 10 horas, además de producirse una reducción del 40% de SOL del TTS (Carskadon & Dement, 2017; Contreras, 2013; Fabres & Moya, 2021). Además, los adolescentes suelen saltarse su primer periodo

de sueño MOR debido a la alta intensidad de la actividad de las ondas lentas (Carskadon & Dement, 2017).

- Adulthood: En la edad adulta, la duración promedio del sueño es de 7 a 8 horas por noche (Contreras, 2013). El sueño MOR representa del 20 al 25% del TTS, mientras que el SOL representa del 75 al 80%, alternándose cíclicamente cada 90 minutos (Fabres & Moya, 2021; Roth, 2004). La cantidad absoluta de sueño MOR se ha correlacionado con el funcionamiento intelectual y disminuye notablemente en casos de disfunciones cerebrales orgánicas en ancianos (Carskadon & Dement, 2017).
- Vejez: Los adultos mayores suelen presentar dificultades para dormir de forma continua durante 7 u 8 horas, experimentando una disminución en la eficiencia del sueño, caracterizada por una mayor dificultad para conciliar y mantener el sueño, un aumento en los despertares nocturnos y a partir de los 60 años, el SOL disminuye significativamente, específicamente la etapa III (Carskadon & Dement, 2017; Contreras, 2013; Roth, 2004). Dicha disminución del sueño es compensada por un aumento en la etapa II del SOL (Contreras, 2013). A pesar de la reducción en la cantidad de tiempo del sueño nocturno, esta puede verse compensada por el aumento en la cantidad de siestas durante el día; puesto que, los adultos mayores experimentan mayor somnolencia diurna a comparación de los adultos jóvenes y de mediana edad (Carskadon & Dement, 2017; Roth, 2004).

**Tabla 1. Patrón normal del sueño en el ser humano**

	<b>Lactantes</b>	<b>Niños</b>	<b>Adulto Joven</b>	<b>Adulto Mayor</b>
<i>Vigilia post-inicio del sueño</i>	<5%	<5%	<5%	10 - 25%
<i>Eficiencia del sueño</i>	>90%	>90%	>90%	75 - 85%
<i>SOL (Etapa I)</i>	Sueño quieto	Sueño quieto	2 - 5%	5 - 8%

<i>SOL (Etapa II)</i>	Sueño quieto	Sueño quieto	45 - 50%	57 - 67%
<i>SOL (Etapa III)</i>	Sueño quieto	Sueño quieto	13 - 23%	6 - 17%
<i>Sueño MOR</i>	Sueño activo	50%	20 - 35%	17 - 20%
<i>Proporción sueño MOR/SOL</i>	50:50	50:50	20:80	20:80
<i>Duración del ciclo de sueño MOR/SOL</i>	50 - 60 minutos	45 - 60 minutos	90 - 110 minutos	90 - 110 minutos
<i>Tiempo total de sueño (TTS)</i>	12 – 18 horas	12 – 14 horas	7 - 8 horas	7 horas

Modificado de Contreras, 2013.

### **2.1.5. El electroencefalograma.**

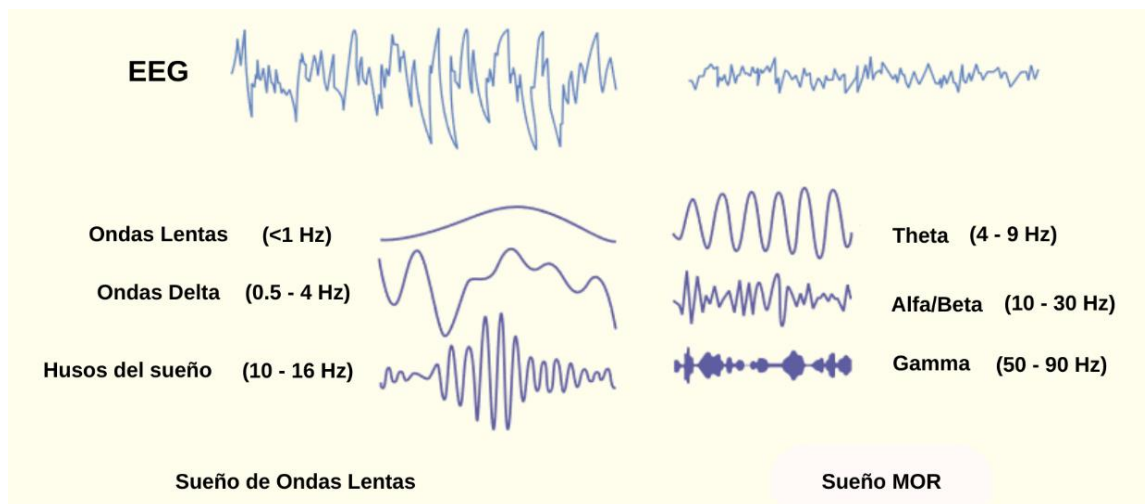
El electroencefalograma (EEG) es una técnica de exploración funcional del sistema nervioso central (SNC), el cual permite registrar la actividad eléctrica cerebral en tiempo real. En 1929, el neurólogo alemán Hans Berger, considerado el padre del EEG humano, acuñó el término “electroencefalograma” para describir las fluctuaciones eléctricas en el cerebro captadas mediante electrodos fijos en el cuero cabelludo (Fernandez & Lüthi, 2020; Ramos-Argüelles et al., 2009).

El origen de la señal eléctrica registrada en el EEG se encuentra en las células piramidales de la corteza cerebral, constituyendo la base de los cambios observables del potencial de campo extracelular. Dichas neuronas funcionan como pequeños dipolos eléctricos, cuya polaridad depende de si el impulso hacia la célula es inhibitorio o excitatorio. Las corrientes sinápticas sumadas de las dendritas apicales de las neuronas piramidales son las que más contribuyen a las ondas del EEG (Brown et al., 2012; Fernandez & Lüthi, 2020; Ramos-Argüelles et al., 2009).

Con la finalidad de recopilar y registrar la actividad eléctrica en cada región cerebral a través de la superficie craneal, se colocan electrodos que captan las diferencias de los potenciales eléctricos entre los electrodos o de estos contra una tierra. Estos

electrodos pueden situarse en distintos sitios, como son: en el cuero cabelludo o EEG estándar, en la superficie cortical o EEG cortical e intracerebrales denominado EEG de profundidad (Ramos-Argüelles et al., 2009).

El EEG es la única técnica que permite un registro multicanal continuo de la actividad eléctrica durante largos períodos de tiempo. Las señales del EEG que son registradas, permiten estudiar la actividad eléctrica del ciclo sueño-vigilia o la realización de tareas neuropsicológicas que involucran entradas sensoriales y funciones cognitivas superiores. A partir de los registros del EEG se pueden diferenciar las distintas etapas del ciclo sueño-vigilia con base en la frecuencia y amplitud de las ondas cerebrales (véase Figura 8; Lehnertz et al., 2021).



**Figura 8. Patrones del electroencefalograma en las dos etapas del sueño.** El EEG en la fase del sueño de ondas lentas, se caracteriza por presentar oscilaciones de gran amplitud y con frecuencia <1 Hz, ondas delta con frecuencias de 0.5 hasta 4 Hz y la aparición de los husos del sueño con frecuencia de entre 10 a 16 Hz. Mientras que, en el sueño MOR, se caracteriza por disparos de baja amplitud, desincronizados y mixtos de alta frecuencia, con frecuencias en el rango de las ondas theta de 4 a 9 Hz, alfa/beta de 10 a 30 Hz y rango gamma de 50 a 90 Hz. Modificado de Lakhiani, Shanavas y Melnattur, 2023.

A lo largo del ciclo sueño-vigilia, la actividad cerebral permite la aparición de diferentes tipos de ondas, cada una con un papel específico. Las principales ondas cerebrales:

Las ondas gamma con frecuencia del 30 a 120 Hz: Son ondas de baja amplitud y de alta frecuencia, que predominan mayormente durante la vigilia activa y durante el sueño con movimientos oculares rápidos (MOR). Las ondas gamma son generadas por redes corticales de interneuronas dirigidas a los cuerpos celulares

de las neuronas glutamatérgicas de la corteza cerebral. Estas se ven potenciadas por la estimulación de la formación reticular mesencefálica (Brown et al., 2012; Jones, 2020).

Las ondas beta con frecuencia del 15 a 30 Hz: Son ondas de baja amplitud y alta frecuencia, predominantes en los estados de vigilia activa o en estados de alerta. Estas ondas son más eficaces que las ondas gamma para sincronizar la actividad entre loci cerebrales espacialmente distantes en la corteza cerebral (Brown et al., 2012; Jones, 2020).

Las ondas alfa con frecuencia de 8 a 14 Hz: Son ondas que predominan en el EEG durante la vigilia quieta en zonas de la corteza parietal y occipital, y son suprimidas al abrir los ojos o por estímulos visuales. También se pueden registrar ondas alfa durante la etapa I del SOL. Se considera un puente entre la vigilia y el sueño. Estas ondas pueden desempeñarse en procesos de pensamiento durante las tareas que utilicen aritmética mental e imágenes visuales (Brown et al., 2012; Jones, 2020).

Las ondas theta con frecuencia de 4 a 8 Hz: Estas ondas, se producen de forma prominente durante la vigilia, en tareas que requieran de atención activa o aprendizaje o en el sueño MOR. El ritmo theta proporciona un código temporal para el disparo de las células piramidales/granulares, importantes para la navegación espacial, la formación de la memoria episódica y en la plasticidad sináptica (Brown et al., 2012)

Las ondas delta con frecuencia de 1 a 4 Hz: Son las ondas más lentas con una alta amplitud en la corteza y tálamo, siendo las más típicas en las etapas más profundas del SOL. Dichas ondas son el resultado de la alternancia sincronizada entre un estado inferior hiperpolarizado y un estado superior despolarizado y de activación de ráfagas de las neuronas piramidales corticales (Brown et al., 2012; Jones, 2020; Lakhiani et al., 2023).

### **3. ANTECEDENTES.**

#### **3.1. ANTECEDENTES GENERALES.**

##### **3.1.1. Neuroanatomía del ciclo sueño-vigilia.**

Entre los distintos circuitos que se ven implicados en la regulación del sueño y la vigilia podemos mencionar los siguientes:

###### *El Sistema Reticular de Activación Ascendente*

En la primera mitad del siglo XX, Frederic Bremer descubrió que la transección del cerebro de los gatos a nivel medio del colículo, conocida como “*cerveau isole*”, provocaba un comportamiento similar al sueño, al igual que la presencia de ondas lentas en corteza cerebral. Mientras que, al realizar la transección en la unión del tronco encefálico y la médula espinal, denominado “*encephale isole*”, se obtienen sujetos que presentan ciclicidad en los estados de sueño-vigilia que no se alteraban, sugiriendo que la entrada sensorial desde la médula espinal no es requerida para producir el estado de vigilia (Brown et al., 2012).

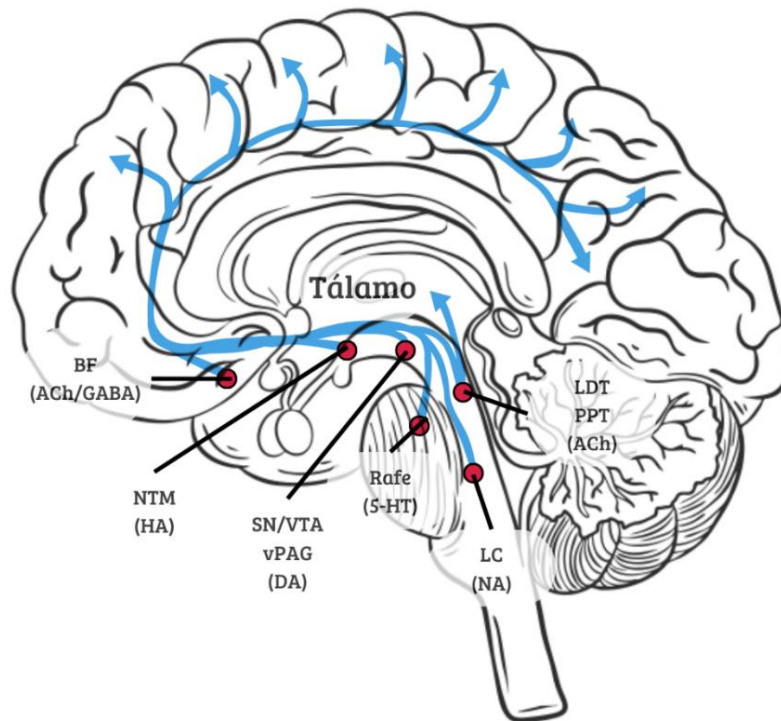
Poco tiempo después, gracias al trabajo experimental de Morruzi y Magoun (1949), se demostró que la estimulación eléctrica de la formación reticular (FR), una región heterogénea del tronco encefálico donde se localizan diversos núcleos generaba un patrón de actividad cortical en el EEG semejante al estado de vigilia. Estos resultados consolidaron el rol de la FR en el inicio y mantenimiento de la vigilia, además de la excitación conductual y la activación cortical (Brown et al., 2012; España & Scammell, 2011; Jones, 2020).

Las neuronas de la FR proyectan fibras descendentes hacia la médula espinal, las cuales facilitan el movimiento y el tono muscular postural, mientras que sus proyecciones ascendentes hacia el prosencéfalo contribuyen a la activación cortical. Para promover la excitación, la FR utiliza neurotransmisores como la acetilcolina, el glutamato o las monoaminas (España & Scammell, 2011; Jones, 2020).

El sistema reticular de activación ascendente (SARA) es una red de fibras nerviosas que ascienden desde el tronco encefálico y, a través de múltiples blancos

intermediarios, activan el cerebro anterior durante la vigilia y el sueño MOR. La actividad de las neuronas reticulares del tronco encefálico que originan estas vías predice cambios en el estado conductual. Se han mostrado dos vías principales en el SARA: la vía dorsal y la vía ventral (Brown et al., 2012; Jones, 2020).

La vía dorsal del SARA incluye neuronas glutamatérgicas del mesencéfalo, las regiones pontinas y de la FR del bulbo raquídeo, además de neuronas colinérgicas de los núcleos tegmentales pedunculopontino y laterodorsal, que inervan la línea media y el sistema de proyección tálamo-cortical intralaminar, participando directamente en la activación cortical. Por otra parte, la vía ventral está compuesta por fibras del haz medial del prosencéfalo, que atraviesan y se conectan con neuronas del mesencéfalo, hipotálamo posterior y lateral, y el cerebro anterior basal en su trayecto hacia la corteza cerebral (Brown et al., 2012; Jones, 2020). Las fibras ascendentes del tronco encefálico incluyen neuronas de distintos tipos, como las glutamatérgicas, las noradrenérgicas, las serotoninérgicas y las dopaminérgicas, las cuales realizan sinapsis con neuronas glutamatérgicas, histaminérgicas y orexinérgicas en el hipotálamo posterior y lateral. Esta vía participa en la transmisión y mantenimiento de la activación cortical (véase Figura 9; Brown et al., 2012; Jones, 2020).



**Figura 9. Vías y núcleos del sistema reticular de activación ascendente.** Las regiones corticales y subcorticales son excitadas por neurotransmisores monoaminérgicos que incluyen noradrenalina (NA) del locus coeruleus (LC); serotonina (5-HT) de los núcleos dorsal y mediano del rafe; histamina (HA) del núcleo tuberomamilar (NTM); y dopamina (DA) de la sustancia *nigra* (SN), el área tegmental ventral (VTA) y de la sustancia gris periacueductal ventral (vPAG). Las neuronas del prosencéfalo basal (BF) promueven la activación cortical utilizando acetilcolina (ACh) y ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA). Las neuronas de los núcleos tegmentales laterodorsal (LDT) y pedunculopontino (PPT) liberan ACh para excitar neuronas en el tálamo, hipotálamo y el tronco del encéfalo. Modificado de España y Scammell, 2011.

### *El área preóptica y el hipotálamo.*

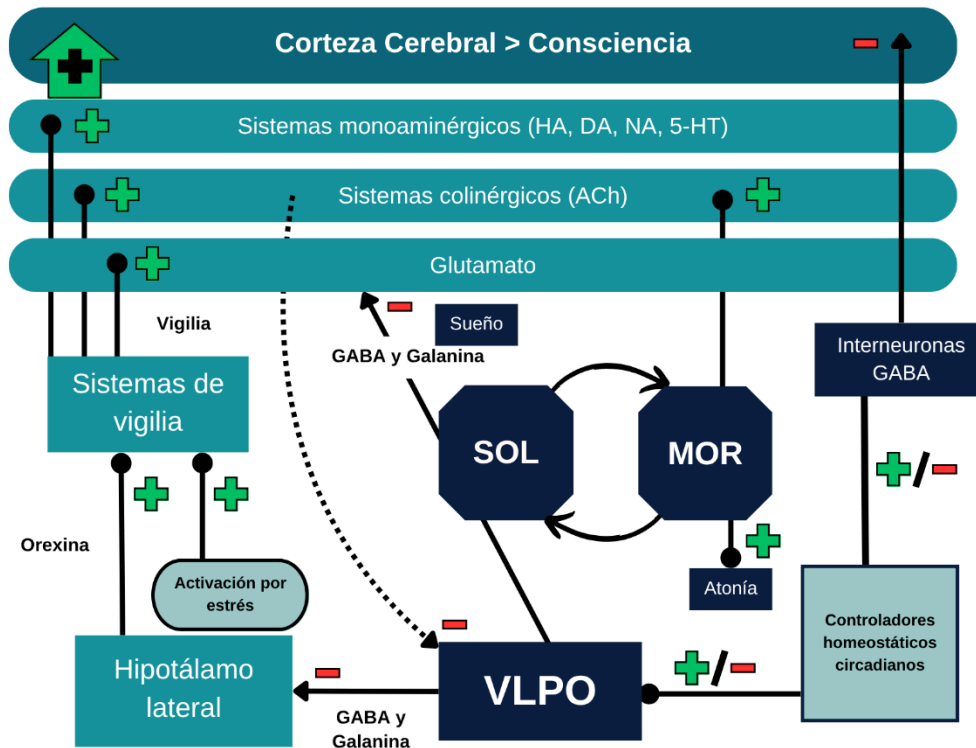
En el área preóptica del hipotálamo se han registrado neuronas activas encargadas de la regulación de la vigilia y del sueño MOR; así como, en los núcleos preóptico ventrolateral (VLPO) y el preóptico medial (MNPO), considerados como centros del sueño (Jones, 2020). El hipotálamo anterior y el área preóptica parecen ser críticos para el mantenimiento del sueño, mientras que el hipotálamo posterior y lateral, junto con la región rostral del SARA parecen ser los más importantes para el mantenimiento de la vigilia (Jones, 2020).

La actividad de las neuronas glutamatérgicas y GABAérgicas participan en la generación de cada estado de vigilia y sueño, y sus funciones dependen de la frecuencia de disparo, de los receptores activados por las entradas de neuromoduladores y de sus proyecciones específicas (Jones, 2020). En el área

preóptica, las neuronas promotoras del sueño inhiben a las neuronas promotoras de la vigilia del tipo monoaminérgicas, histaminérgicas y colinérgicas. A su vez, estas neuronas preópticas son inhibidas por neurotransmisores típicos de los sistemas de vigilia, como son la noradrenalina, la serotonina, la histamina y la acetilcolina (España & Scammell, 2011). Durante la vigilia, el tono monoaminérgico y colinérgico mantiene silenciada el área preóptica, permitiendo la activación de regiones excitatorias; en cambio, durante el sueño, las neuronas del área preóptica inhiben dichas regiones, favoreciendo así su propia actividad (España & Scammell, 2011).

Las neuronas del VLPO y MNPO muestran patrones específicos de activación en función del estado de sueño. Muchas de estas neuronas aumentan su actividad durante el SOL y en menor medida, durante el sueño MOR, permaneciendo inactivas durante la vigilia (España & Scammell, 2011; Jones, 2020). En específico, las neuronas del VLPO presentan una alta tasa de disparo durante el SOL profundo. Mientras que las neuronas del MNPO suelen activarse justo antes de la transición al sueño SOL, lo que sugiere un rol primordial en el inicio del sueño SOL. En contraste, el VLPO parece ser fundamental para el mantenimiento de esta etapa del sueño. Estas neuronas contienen el neurotransmisor inhibitorio GABA y el neuropéptido galanina, los cuales se encuentran en las regiones claves involucradas en la excitación, como son las neuronas del núcleo tegmental ventral pedunculopontino y latero-dorsal (PPT/LDT, respectivamente), el locus coeruleus (LC), el núcleo del rafé dorsal (DR), el núcleo tuberomamilar (NTM) y las neuronas orexinérgicas (España & Scammell, 2011).

Se ha mostrado que el VLPO y el MNPO promueven el sueño coordinando la inhibición de las regiones de excitación durante el sueño SOL, como el sueño MOR. Adicionalmente, en el sueño MOR, otras regiones cerebrales, como son partes del hipotálamo lateral y del prosencéfalo basal (BF), contienen neuronas GABAérgicas activas durante el SOL, lo cual contribuye a la modulación y mantenimiento de este estadio del sueño (véase Figura 10; España & Scammell, 2011).



**Figura 10. Principales estructuras cerebrales y sistemas de neurotransmisores involucrados en el ciclo sueño-vigilia.** Los estados de vigilia y sueño surgen de circuitos mutuamente excitatorios e inhibitorios (*flip-flop*). El diagrama ilustra una versión simplificada de las interacciones asociadas entre la transición de la vigilia al sueño y viceversa. Durante la vigilia, las neuronas orexinérgicas del hipotálamo lateral (HL) proyectan y excitan (+) diferentes poblaciones de neuronas promotoras de la vigilia en el cerebro posterior y medio, incluyendo las neuronas monoaminérgicas que liberan histamina, dopamina, noradrenalina y serotonina; de neuronas colinérgicas del cerebro posterior que liberan acetilcolina; y un importante grupo de neuronas ampliamente distribuidas que liberan glutamato. Dichos neurotransmisores impulsan la vigilia y la conciencia dentro de la corteza. Además, la activación aguda del eje del estrés contribuye a la regulación del ciclo, promoviendo la vigilia e inhibiendo al sueño. Durante la vigilia, las neuronas monoaminérgicas se proyectan hacia (línea punteada) los núcleos preópticos ventrolaterales (VLPO) para ser inhibidos (-). Durante el sueño, los procesos C y S del sueño activan al VLPO, liberando GABA y galanina para inhibir a las neuronas orexinérgicas en el HL, y a las poblaciones neuronales monoaminérgicas, colinérgicas y glutamatérgicas. Además, una subpoblación de interneuronas de la corteza se proyecta a grandes distancias hasta la corteza cerebral y liberan GABA durante el sueño. Durante el sueño MOR, las neuronas monoaminérgicas permanecen inhibidas, pero son activadas por neuronas colinérgicas (+). Modificado de Foster, 2020.

### 3.1.2. Neuroquímica del sueño.

En el cerebro de los mamíferos, los circuitos reguladores del sueño y la vigilia están distribuidos ampliamente y expresan distintos neurotransmisores. Destacaré brevemente algunos de los sistemas transmisores que promueven la excitación y el sueño (véase Tabla 2).

#### *Sistemas promotores de la vigilia*

- Acetilcolina: Se propuso en primera instancia a la acetilcolina (ACh) como el principal neurotransmisor del SARA, con proyecciones desde el tronco encefálico que ascienden hasta el tálamo y prosencéfalo basal (BF) (España & Scammell, 2011; Jones, 2020). La mayoría de las neuronas colinérgicas del BF están activas durante la vigilia y el sueño MOR, promoviendo directamente los ritmos del EEG (ritmo theta) a través de proyecciones a la corteza cerebral y al hipocampo (Brown et al., 2012; España & Scammell, 2011). Un segundo grupo de neuronas colinérgicas se encuentra en la protuberancia específicamente en los núcleos pontinos, promoviendo la activación cortical al liberar ACh en el tálamo (España & Scammell, 2011).
- Noradrenalina: En general, se considera que las neuronas de noradrenalina (NA) forman parte de la respuesta central de huida o lucha, por lo que se asocia especialmente en el despertar bajo situaciones estresantes (Brown et al., 2012). Su papel adicional es el mantenimiento del tono muscular durante la vigilia y la supresión en el sueño MOR, y puede contribuir a generar excitación en situaciones que requieren de mucha atención (Brown et al., 2012; España & Scammell, 2011). Dado que se han descrito pequeñas inervaciones localizadas por todo el tronco encefálico, pero la principal fuente de NA es el locus coeruleus (LC). Las neuronas del LC se disparan más rápidamente durante la vigilia y se activan aún más por estímulos estresantes, pero su disparo se ralentiza durante la fase SOL y cesa antes y durante el sueño MOR (Brown et al., 2012). Los niveles extracelulares de NA están linealmente relacionados con la actividad neuronal del LC, teniendo las tasas más altas de liberación durante la vigilia (España & Scammell, 2011). La NA inhibe a las neuronas de los núcleos ventrolateral y preóptico medio, así como las neuronas colinérgicas del tronco encefálico activadas durante el sueño (Brown et al., 2012).
- Dopamina: La dopamina (DA) es clave en la regulación de diversos procesos conductuales y fisiológicos, como son la función motora, la

motivación, el aprendizaje y el sistema de recompensa; también posee un potente efecto promotor de la vigilia (España & Scammell, 2011). Las neuronas productoras de DA se congregan principalmente en la sustancia *nigra* y en el área tegmental ventral (VTA), donde los niveles extracelulares de DA son altos durante la vigilia y disminuyen en la fase SOL (Brown et al., 2012; Jones, 2020). La frecuencia de disparo de las neuronas dopaminérgicas en el VTA y la sustancia *nigra* no varían entre el estado de sueño y vigilia; pero las neuronas del VTA presentan una mayor actividad en la vigilia y el sueño MOR, tras estímulos gratificantes o aversivos (Brown et al., 2012; España & Scammell, 2011; Jones, 2020). Por otra parte, las neuronas dopaminérgicas del área gris periacueductual ventral (vPAG) mantienen únicamente actividad durante la vigilia, proyectándose hacia otras regiones del SARA. Estas neuronas también reciben información de las neuronas del VLPO, las cuales se encuentran activas durante el sueño. Los patrones de disparo de las neuronas de DA cambian de una descarga tipo ráfaga en la vigilia a un modo de potencial de acción (SOL), para nuevamente regresar a una descarga de tipo ráfaga durante el sueño MOR (Brown et al., 2012; España & Scammell, 2011; Jones, 2020).

- Serotonina: La serotonina (5-HT) influye en varios aspectos del comportamiento, tales como el estado de ánimo, la ansiedad, la agresividad y el apetito. Es producida por las neuronas del núcleo del rafe dorsal, que inervan distintas regiones para regular el ciclo sueño-vigilia (España & Scammell, 2011). En específico, la 5-HT promueve un estado de vigilia tranquila caracterizado por una actividad cortical reducida, y desempeña un papel importante en la supresión del sueño MOR y en las respuestas al estrés (Brown et al., 2012). En la fase del SOL el disparo neuronal disminuye, probablemente debido a una inhibición postsináptica mediada por los receptores de las neuronas VLPO activas durante el sueño. Mientras que, la inhibición del sueño MOR está implicada por una

inhibición postsináptica de las neuronas colinérgicas del tronco encefálico activas durante el sueño MOR (Brown et al., 2012).

- Histamina: La histamina (HA) desempeña un papel esencial en la promoción de la vigilia, aunque se desconoce los aspectos de la excitación que regula (España & Scammell, 2011). La mayor concentración de neuronas histaminérgicas se encuentra en el núcleo tuberomamilar (NTM) en la base del hipotálamo posterior, con altas tasas de activación en la vigilia, mientras que, en la fase SOL su actividad es más lenta y están desactivadas durante el sueño MOR (Brown et al., 2012; España & Scammell, 2011). La HA tiene efectos excitatorios en la mayoría de los núcleos del SARA, promoviendo la vigilia. Por lo contrario, la HA inhibe las neuronas de proyección activas durante el sueño de ondas lentas del VLPO mediante las interneuronas inhibitorias locales, lo que conduce a una promoción de la vigilia (España & Scammell, 2011).
- Orexina: Los neuropéptidos de orexinas tipo A y B son sintetizados por neuronas del hipotálamo lateral y posterior, desempeñando las funciones esenciales en la regulación de la vigilia y el sueño (España & Scammell, 2011). Las neuronas orexinérgicas se proyectan ampliamente e inervan en gran medida todas las regiones de excitación contempladas en el SARA, con una inervación especialmente densa en el LC y el NTM. Las neuronas de orexina se activan más rápidamente durante la vigilia activa, presentando niveles altos de orexina a nivel extracelular, disminuyendo su actividad durante la vigilia tranquila y permanecen en silencio durante las fases de SOL y de MOR; excepto durante los micro despertares o inmediatamente antes del despertar del sueño (Brown et al., 2012; España & Scammell, 2011). Se considera que la pérdida de neuronas orexinérgicas en humanos es la causa de la narcolepsia tipo I, un trastorno caracterizado por la incapacidad de mantener el estado de vigilia, cataplejía, alucinaciones hipnagógicas (Lakhiani et al., 2023).

### *Sistemas promotores del sueño*

- Hormona concentradora de melanina: Las neuronas que contienen la hormona concentradora de melanina (MCH) están distribuidas en el hipotálamo de forma acoplada con las neuronas orexinérgicas, también tienen proyecciones difusas a través del cerebro, incluyendo la corteza cerebral (España & Scammell, 2011; Jones, 2020). La MCH tiene una influencia predominantemente inhibitoria sobre la transmisión sináptica, además pueden liberar GABA de una parte de sus terminales. Su mayor actividad de disparos es durante el sueño en comparación con las orexinas; durante el sueño MOR los disparos se presentan a un ritmo elevado, los cuales son menores en el SOL y están inactivas durante la vigilia; considerándose así a la MCH como un importante modulador en los circuitos del sueño (España & Scammell, 2011; Jones, 2020).
- GABA: El sistema transmisor del sueño mejor caracterizado es el ácido gamma aminobutírico (GABA). Los principales núcleos GABAérgicos se encuentran en el núcleo preóptico ventrolateral (VLPO). Las neuronas GABAérgicas del VLPO inhiben y, a su vez son inhibidas por los sistemas que promueven la excitación, constituyendo un sistema “*flip-flop*” que permite las transiciones rápidas entre los estados del ciclo sueño-vigilia.

**Tabla 2. Perfiles de actividad de los sistemas de neurotransmisores durante el ciclo sueño-vigilia**

	<b>Vigilia</b>	<b>Sueño SOL</b>	<b>Sueño MOR</b>
Acetilcolina	↑↑	—	↑↑
Monoaminas	↑↑	↑	—
Orexina	↑↑	—	—
MCH	—	—	↑↑
VLPO/MNPO	—	↑↑	↑↑

Hormona concentradora de melanina (MCH); área preóptica ventrolateral (VLPO); área preóptica medial (MNPO).

Representación de la actividad neuronal: (↑) velocidad de disparo más lenta; (↑↑) tasa de activación rápida; (—) poco o ningún disparo. Modificado de España y Scammell, 2011

### **3.1.3. Impacto del sueño en la salud física y mental.**

El sueño al ser considerado como uno de los 3 pilares básicos de la salud junto con la dieta y el ejercicio, desempeña un papel crucial en el bienestar y calidad de vida de un ser humano (Clement-Carbonell et al., 2021). Por lo tanto, el experimentar un correcto dormir es esencial para mantener tanto la salud física como mental, y la alteración de dicho estado es evidente en distintos aspectos de nuestra vida diaria (véase Figura 11).

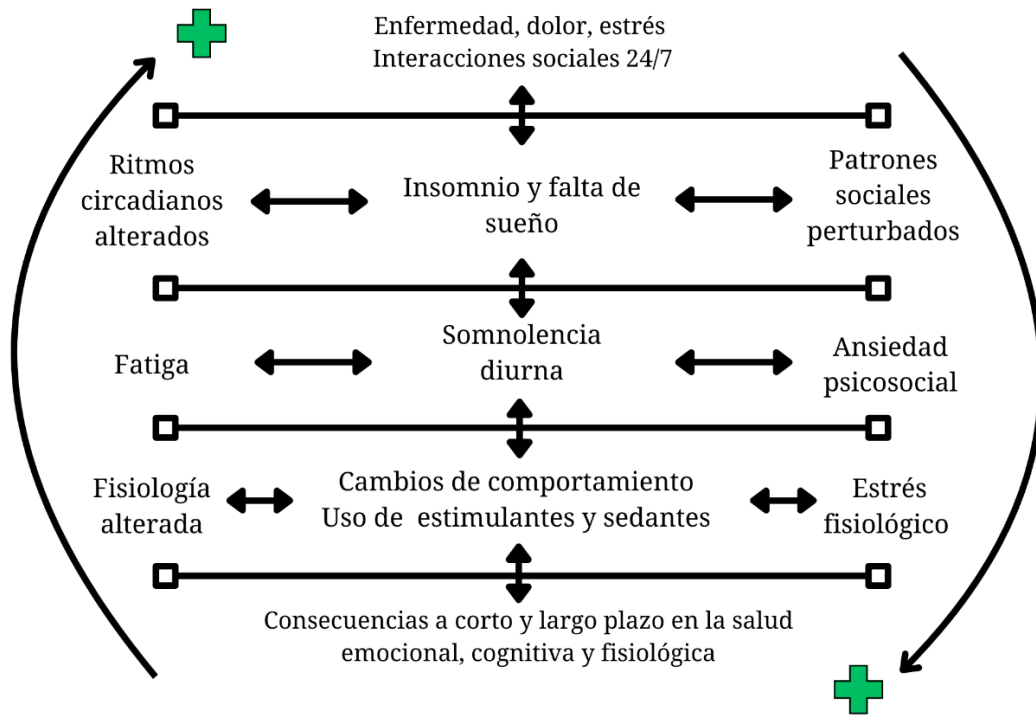
Una mala calidad del sueño puede tener consecuencias en la salud física, como desarrollar diabetes tipo II, hipertensión, dolor crónico y presentar un índice de masa corporal más elevado. Mientras que, las consecuencias en las conductas psicológicas más comunes, se encuentra la ansiedad, el estrés, la depresión y la agresividad (Clement-Carbonell et al., 2021; Foster, 2020). De igual manera, el déficit del sueño puede provocar alteraciones en el funcionamiento cognitivo y conductual, al contribuir al desarrollo de trastornos como el déficit de atención e hiperactividad (Clement-Carbonell et al., 2021).

Dada la complejidad y a la regulación del mantenimiento del sueño, este estado es muy vulnerable a cualquier alteración (Foster, 2020). Las alteraciones en el sueño pueden ser generados por diferentes aspectos; pero las alteraciones en la maquinaria cronobiológica, se refiere a la desincronización del medio, tanto interna como externa (Ángeles-Castellanos et al., 2007).

Las desincronizaciones internas se producen cuando hay una pérdida en la sincronización del reloj biológico con el resto del organismo, señalando una alteración en la salida de las señales rítmicas a los efectores del organismo. Por otro lado, las desincronizaciones externas ocurren cuando hay una pérdida en la sincronización entre las oscilaciones del medio ambiente y el reloj biológico, como sucede en los viajes en los que se atraviesan varios husos horarios (Ángeles-Castellanos et al., 2007).

Por esta razón, la falta de sueño puede surgir por problemas sociales como los horarios laborales extendidos, trabajos por turnos, el *jet-lag*; los cuales contribuyen

a la reducción del sueño y predisponen a las personas a padecer trastornos del sueño (Clement-Carbonell et al., 2021; Foster, 2020). Estos impactos pueden dar lugar a una alteración del ritmo circadiano, insomnio, privación del sueño, fatiga, somnolencia diurna y ansiedad psicosocial, cambios globales a la fisiología, cambios conductuales o la activación crónica del eje del estrés fisiológico (Clement-Carbonell et al., 2021; Foster, 2020).



**Figura 11. Factores y sus interacciones que afectan a la salud física, emocional y el sueño.** Factores como la enfermedad, el dolor, las situaciones estresantes o el impacto de trabajar por turnos o las interacciones sociales que se dan 24/7 pueden generar alteraciones en el ritmo circadiano, causar insomnio, privación del sueño y comportamientos anormales. En conjunto, estos problemas pueden dar lugar a la fatiga, somnolencia diurna y ansiedad psicosocial. Estas alteraciones en los comportamientos, a su vez, alterarán la fisiología, los comportamientos anormales promoverán el uso de estimulantes y sedantes y estimularán el estrés fisiológico. Globalmente, esta cascada de acontecimientos favorece enfermedades a corto y largo plazo como; somnolencia diurna, micro sueños, enfermedades cardiovasculares, alteraciones a la respuesta del estrés, infección o baja inmunidad, ser más propenso al cáncer, diabetes tipo II, depresión y psicosis, etcétera. Modificado de Foster, 2020.

### 3.1.4. Trastornos del sueño.

Las personas con trastornos del sueño suelen presentar una incapacidad para conciliar el sueño o mantenerlo durante la noche, somnolencia diurna excesiva y movimientos anómalos relacionados con el sueño (Rémi et al., 2019). Dichas

alteraciones incrementan el riesgo de desarrollar enfermedades secundarias, tanto físicas como mentales.

Estos trastornos no solo afectan el estado de salud, sino que constituyen una fuente considerable de sufrimiento y angustia para el paciente, además de presentar una notable diversidad en su manifestación clínica a lo largo de las diferentes etapas de la vida, desde la lactancia hasta la vejez (Benavides-Endara & Ramos-Galarza, 2019). Los trastornos del sueño pueden manifestarse como entidades únicas relacionadas con la arquitectura del ciclo sueño-vigilia. Para el diagnóstico de estos trastornos se requiere de una excelente historia clínica y de un detallado registro de actividades del paciente durante al menos dos semanas, la polisomnografía también es una gran herramienta de diagnóstico, pero no para obtener un registro informativo de mayor duración de tiempo (Ángeles-Castellanos et al., 2023; Benavides-Endara & Ramos-Galarza, 2019). Estos registros permiten evaluar y comprender las perturbaciones en el ciclo sueño-vigilia.

El principal problema en la mayoría de los trastornos del sueño es que el paciente no puede dormir cuando lo desea, necesita o requiere (Ángeles-Castellanos et al., 2023). Provocando los episodios de vigilia en momentos no deseados o en momentos inadecuados, impactando negativamente en la fisiología o el comportamiento del individuo (Benavides-Endara & Ramos-Galarza, 2019; Rémi et al., 2019).

La comprensión de la conducta del sueño sigue siendo un enigma para los investigadores, lo que es de suma importancia el continuar estudiando estos fenómenos para mejorar la calidad de vida de las personas.

#### **3.1.4.1. Clasificación de los trastornos del sueño.**

La Clasificación Internacional de los Trastornos del Sueño en su tercera edición, revisado en 2023; distingue seis categorías de los trastornos del sueño: insomnio, trastornos respiratorios relacionados con el sueño, trastornos centrales de hipersomnolencia, trastorno del ritmo circadiano, parasomnias, trastornos de movimiento relacionados con el sueño (véase Tabla 3; AASM, 2024; Sateia, 2014).

**Tabla 3. Clasificación internacional de los trastornos del sueño.**

<b>Clasificación General</b>	<b>Tipos</b>
<i>Insomnio</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Insomnio crónico</li> <li>○ Insomnio a corto plazo</li> </ul>
<i>Trastornos respiratorios relacionados con el sueño</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Síndrome de apnea obstructiva del sueño</li> <li>○ Síndrome de apnea central del sueño</li> <li>○ Trastornos de hipoventilación relacionados con el sueño</li> <li>○ Trastorno de hipoxemia relacionado con el sueño</li> </ul>
<i>Trastornos centrales de hipersomnolencia</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Narcolepsia tipo 1 y 2</li> <li>○ Hipersomnolia idiopática</li> <li>○ Síndrome de Kleine-Levin</li> <li>○ Hipersomnolia debido a un trastorno médico</li> <li>○ Hipersomnolia debido a un medicamento o sustancia</li> <li>○ Hipersomnolia asociada a un trastorno psiquiátrico</li> <li>○ Síndrome de sueño insuficiente</li> </ul>
<i>Trastornos del ritmo circadiano</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Trastorno del retraso de la fase de sueño</li> <li>○ Trastorno del adelanto de la fase de sueño</li> <li>○ Trastorno del ritmo irregular del ciclo sueño-vigilia</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Trastorno laboral debido a cambio de turnos en el trabajo (<i>shift work</i>)</li> <li>○ Trastorno del desfase debido al cambio de horario (<i>jet-lag</i>)</li> <li>○ Trastorno circadiano del sueño-vigilia no especificado</li> </ul>
<i>Parasomnias</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Parasomnias relacionadas con el sueño no MOR</li> <li>○ Parasomnias relacionadas con el sueño MOR</li> <li>○ Otras parasomnias</li> </ul>
<i>Trastornos del movimiento relacionados con el sueño</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Síndrome de piernas inquietas</li> <li>○ Trastorno del movimiento periódico de las extremidades</li> <li>○ Calambres en las piernas relacionados con el sueño</li> <li>○ Bruxismo relacionado con el sueño</li> <li>○ Trastorno de movimientos rítmicos relacionado con el sueño</li> <li>○ Trastorno del movimiento relacionado con el sueño debido a un trastorno médico</li> <li>○ Trastorno del movimiento relacionado con el sueño debido a un medicamento</li> </ul>

### 3.1.4.2. Narcolepsia.

La narcolepsia fue descrita originalmente en 1880 por el médico francés Jean-Baptiste Edouard Gélinau, quien relató el caso de un comerciante de vinos que padecía somnolencia; acuñando el término de narcolepsia, del griego *nárke*, “sopor”, y *lepsis*, “posesión” (Arias-Carrión, 2010; Golden y Lipford, 2018).

La narcolepsia es un trastorno neurológico crónico del sueño que afecta tanto a humanos y animales; caracterizado por una somnolencia diurna excesiva, cataplejía (episodios breves de la pérdida involuntaria del tono muscular), alucinaciones hipnagógicas (percepciones sensitivas que se producen al dormirse), movimientos oculares rápidos y parálisis del sueño (Mignot et al., 2021; Schiappa et al., 2018; Thorpy, 2020).

La narcolepsia ha sido objeto de estudio por médicos e investigadores por al menos 150 años, pero en los últimos años se han ido esclareciendo algunas de las causas de dicho trastorno. En el año 1998 se descubrieron a la Orexina A y Orexina B, también conocidos como Hipocretina 1 e Hipocretina 2, unos neuropéptidos encargados de regular la excitación, el apetito y la vigilia; producidos únicamente por las neuronas del hipotálamo lateral (Mahoney et al., 2019). Poco después de este hallazgo, estudios demostraron que la narcolepsia es causada por una pérdida altamente selectiva y severa de las neuronas de orexina, provocando que los niveles de orexina se vean disminuidos en el cerebro y en el líquido cefalorraquídeo (LCR; Mahoney et al., 2019; Miyagawa & Tokunaga, 2019).

A raíz de este hallazgo, se realizó el reconocimiento de dos tipos de narcolepsia: Narcolepsia tipo 1 (NT1), anteriormente denominada como narcolepsia con cataplejía y Narcolepsia tipo 2 (NT2), anteriormente denominada como narcolepsia sin cataplejía (Mahoney et al., 2019; Miyagawa & Tokunaga, 2019).

La NT1 se caracteriza por una somnolencia crónica, cataplejía y concentraciones disminuidas de orexina (<110 pg/mL) en el LCR; mientras que en la NT2 hay ausencia de cataplejía y niveles normales de orexina (Mahoney et al., 2019;

Miyagawa & Tokunaga, 2019; Thorpy, 2020). Sin embargo, a la NT2 se le ha considerado como una forma incompleta de la NT1 (Hanin et al., 2021).

La prevalencia mundial de narcolepsia es de 25 a 50 casos por cada 100,000 habitantes. Se ha sugerido que los hombres tienen un mayor riesgo de presentar narcolepsia que las mujeres en una proporción de 1.6-1.8 hombres por 1 mujer. El riesgo de que un padre con narcolepsia tenga un hijo afectado es de aproximadamente de un 1% (Golden & Lipford, 2018; Kornum et al., 2017; Miyagawa & Tokunaga, 2019).

La NT1 está fuertemente asociada con un antígeno leucocitario humano específico (*HLA*, por sus siglas en inglés). En 1984, estudios realizados en pacientes narcolépticos con cataplejía demostraron que tienen un HLA-DR2 a nivel serológico. Este hallazgo se amplió nivel del genotipo del HLA y se mostró que >90% de los asiáticos orientales, como japoneses, coreanos y chinos, así como europeos con NT1 portaban HLA-DRB1\*15:01-DQB1\*06:02 (Golden & Lipford, 2018; Miyagawa & Tokunaga, 2019).

La mayoría de las personas con narcolepsia sienten sueño durante el día y pasan fácilmente al sueño MOR. La mayoría se siente descansada al despertarse por la mañana o después de una siesta, indicando que el sueño es reparador, pero la somnolencia regresa en una o dos horas, lo que sugiere una disfunción en los sistemas que regulan la vigilia (Mahoney et al., 2019).

#### **3.1.4.2.1. Síntomas de la narcolepsia.**

En 1957, los investigadores Yoss y Dali, establecieron los criterios para el diagnóstico del síndrome de narcolepsia, definiendo la tétada clínica clásica la cual incluye: somnolencia diurna excesiva, cataplejía, parálisis del sueño y alucinaciones hipnagógicas (Arias-Carrión, 2010; Severin et al., 2023).

La somnolencia diurna excesiva consiste en una tendencia involuntaria a quedarse dormido en situaciones de poca actividad o incluso en momentos activos, afectando las actividades diarias y relaciones sociales de los pacientes (Arias-Carrión, 2010; Schiappa et al., 2018; Severin et al., 2023). Las personas afectadas sienten

somnolencia y fatiga durante el día, independientemente de cuánto tiempo duerman por la noche. La duración de estas siestas o periodos de sueño varían de segundos a horas. En consecuencia, los pacientes narcolépticos presentan ataques de sueño, que se describen como impulsos repentinos e irresistibles de dormir durante el día; es muy común que estos episodios de sueño sean breves pero reparadores (Arias-Carrión, 2010; Latorre et al., 2022; Schiappa et al., 2018).

La cataplejía es un síntoma patognómico de la NT1, definido como la pérdida repentina, bilateral y transitoria del tono muscular que puede hacer que una persona se desplome o debilite por la pérdida del tono muscular, sin perder el conocimiento. Estos episodios suelen desencadenarse por emociones fuertes, tales como la risa, la ira, la sorpresa o el miedo. La cataplejía sigue una secuencia en la que la pérdida del tono muscular inicia en el rostro y/o el cuello, descendiendo hacia el torso, afectando los brazos y las piernas; la duración de estos episodios varía de unos segundos a unos minutos (Arias-Carrión, 2010; Latorre et al., 2022; Schiappa et al., 2018; Severin et al., 2023). La cataplejía puede ser generalizada, provocando caídas o bien ser parciales, afectando el colapso de algunas extremidades inferiores, la cabeza o provocar disartria (Dauvilliers & Barateau, 2017).

La parálisis del sueño consiste en la incapacidad temporal para moverse o hablar voluntariamente al entrar o salir del sueño, siendo más común al despertar, y cuya duración va de los segundos a minutos (Arias-Carrión, 2010; Severin et al., 2023). Este fenómeno afecta entre un 20 hasta un 50% de los pacientes narcolépticos.

Durante la parálisis del sueño, pueden producirse alucinaciones, conocidas como alucinaciones hipnagógicas (Latorre et al., 2022; Severin et al., 2023). Las alucinaciones hipnagógicas son percepciones alteradas que pueden ser visuales, táctiles, auditivas u otros estímulos sensoriales, normalmente breves, aunque a veces se prolongan (Kompanje, 2008). Estas alucinaciones se producen en la transición de la vigilia al sueño y están presentes hasta en un 30% de los pacientes con narcolepsia. Las alucinaciones más frecuentes son las auditivas, seguidas de las visuales y táctiles (Arias-Carrión, 2010).

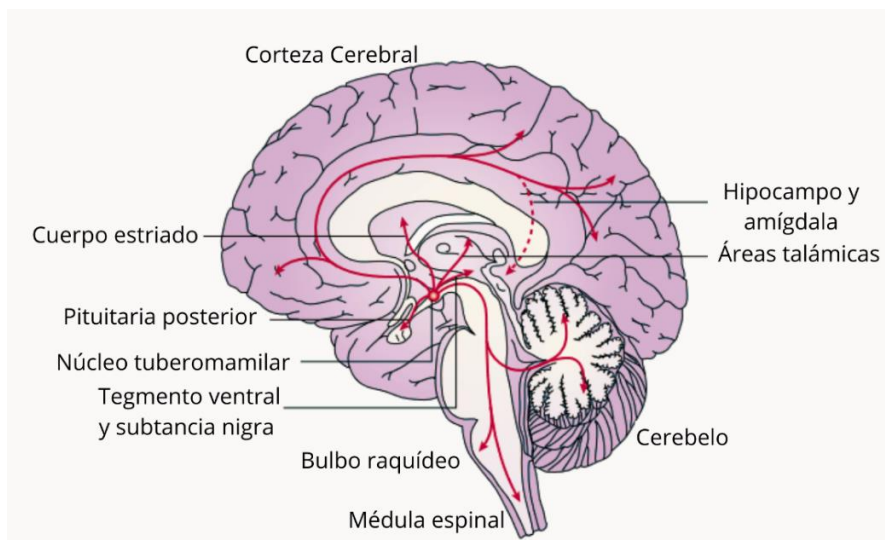
Los otros síntomas comunes de la narcolepsia incluyen el sueño nocturno alterado y fragmentado con múltiples despertares a lo largo de la noche. El trastorno de conducta durante el sueño MOR es una parasomnia caracterizada por la pérdida de la atonía muscular normal en esta fase del sueño, siendo más frecuente en pacientes con NT1 (Dauvilliers & Barateau, 2017). Este patrón refleja la inestabilidad inherente de las transiciones entre el sueño y la vigilia en la narcolepsia (Golden & Lipford, 2018).

Los pacientes narcolépticos tienen otras alteraciones psiquiátricas, siendo común la depresión y la ansiedad, que suelen afectar el rendimiento, la interacción social y la calidad de vida de los pacientes y sus familiares. También se pueden presentar alteraciones metabólicas, como el aumento de peso, obesidad y un comportamiento alimentario irregular, incluyendo atracones de comida o alimentación nocturna (Dauvilliers & Barateau, 2017; Latorre et al., 2022).

### **3.1.5. El rol de la histamina en el sistema nervioso central.**

La histamina (HA) es una amina bioactiva que controla diversos procesos fisiológicos como la respuesta inmune, la secreción de ácido gástrico, la contracción del músculo liso y la regulación de la vigilia (Yoshikawa et al., 2021). Además, desempeña un papel clave en el desarrollo cerebral, la homeostasis y la neurogénesis adulta (Szukiewicz, 2024).

En el cerebro, la HA es producida por mastocitos y neuronas, y su síntesis neuronal ocurre en el núcleo tuberomamilar (NTM) en el hipotálamo posterior, siendo el único sitio de síntesis en el cerebro de los mamíferos adultos, cuyas proyecciones se dirigen a todo el sistema nervioso central (H. L. Haas et al., 2008; Panula & Nuutinen, 2013). En particular, se encuentran inervaciones densas en los diferentes núcleos hipotalámicos, el haz del prosencéfalo medial y en el área tegmental ventral (Yoshikawa et al., 2021). Aunque también inervan la corteza cerebral, los núcleos talámicos, el cuerpo estriado, la amígdala, el hipocampo, los colículos inferior y superior, la sustancia *nigra*, el núcleo parabraquial lateral y medial y el núcleo del tracto solitario (véase Figura 12; H. L. Haas et al., 2008; Panula & Nuutinen, 2013; Yoshikawa et al., 2021).



**Figura 12. Sistema histaminérgico.** Vías de transmisión de histamina en el cerebro humano: origen y proyecciones. Las neuronas histaminérgicas inervan todas las partes principales del cerebro, el cerebelo, la glándula pituitaria posterior y la médula espinal. Modificado de Haas y Panula, 2003.

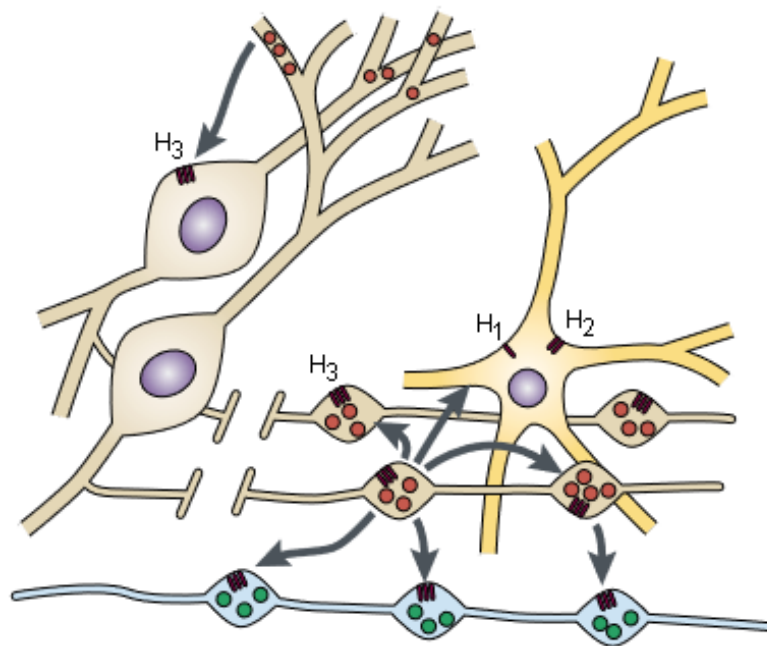
La liberación de HA en el cerebro varía de acuerdo con el estado de comportamiento y se sincroniza con la actividad de las neuronas histaminérgicas. Dicha liberación tiene el rol fundamental de promover la vigilia, al activar a las neuronas colinérgicas y serotoninérgicas, lo que a su vez provoca una activación cortical y al regular los centros talámicos se pueden mediar sus efectos sobre el estado de alerta (H. Haas & Panula, 2003; Jones, 2020; Panula & Nuutinen, 2013). De igual manera la HA es un indicador sensible a los niveles de estrés y de excitación neuronal (H. Haas & Panula, 2003). La actividad histaminérgica sigue un ritmo circadiano con niveles altos durante el periodo activo y niveles bajos durante el periodo de sueño en varias especies (H. L. Haas et al., 2008).

El sistema histaminérgico participa en procesos cognitivos como el aprendizaje y en la consolidación y expresión de la memoria, además de organizar estados generales del metabolismo y la conciencia, incluyendo funciones relacionadas con la hibernación, el efecto sedante de la anestesia y la regulación de la alimentación (H. Haas & Panula, 2003; Panula & Nuutinen, 2013; Szukiewicz, 2024). Diversos estudios sugieren al sistema orexinérgico con un rol regulador sobre la HA en la promoción de la vigilia (Panula & Nuutinen, 2013). En los mamíferos, la orexina

excita directamente a las neuronas histaminérgicas a través del receptor 2 de orexina (Panula & Nuutinen, 2013).

### 3.1.5.1. Receptores de histamina.

La histamina ejerce sus efectos biológicos uniéndose y activando cuatro tipos de receptores acoplados a proteínas G denominados H1-H4. Los primeros tres receptores se descubrieron entre 1966 y 1983, mientras que el cuarto receptor fue descubierto a partir del año 2000 (Lieberman, 2011). La distribución de los primeros tres receptores se da en el sistema nervioso central en compartimientos celulares específicos, mientras que el cuarto se encuentra distribuido en el sistema nervioso periférico, como en la médula ósea y los leucocitos (véase Figura 13; H. Haas & Panula, 2003; Lieberman, 2011).



**Figura 13. Receptores de histamina.** Los receptores H3 se encuentran en los cuerpos celulares y axones de las neuronas del núcleo tuberomamilar (NTM), así como en los axones de otras clases de neuronas. Los receptores H1 y H2 se localizan en los cuerpos celulares de todo el sistema nervioso central. Modificado de Haas y Panula, 2003.

El receptor H1 es una proteína de 486-491 aminoácidos acoplada a las proteínas Gαq/11 y fosfolipasa C (H. Haas & Panula, 2003). Su función se relaciona con el control del estado nutricional y del comportamiento, además de ejercer una acción excitadora sobre toda la actividad cerebral (H. Haas & Panula, 2003; Passani &

Blandina, 2011). El receptor H2, es una proteína de 358-359 aminoácidos acoplada a la proteína Gs y a la proteína quinasa A, que regula la plasticidad neuronal y excita a las membranas neuronales (H. Haas & Panula, 2003; Passani & Blandina, 2011). Tanto los receptores H1 como los H2, se encuentran en las células neuronales y gliales, expresándose postsinápticamente y participando en la anti-nocicepción y en la analgesia inducida por estrés (Panula & Nuutinen, 2013; Passani & Blandina, 2011).

El receptor H3 está localizado en los somas de las neuronas histaminérgicas. Acoplada a varias vías de transducción de señales, incluida la Gi/Go. Regulan la liberación y síntesis de histamina a través de retroalimentación negativa, además de regular la liberación de otros neurotransmisores (GABA, glutamato, acetilcolina y noradrenalina) en regiones cerebrales como: la sustancia *nigra*, la amígdala y la corteza cerebral (H. Haas & Panula, 2003; Passani & Blandina, 2011).

En resumen, los receptores H1 y H2 poseen acciones excitadoras sobre las neuronas, mientras que, el receptor H3 provoca la autoinhibición de las neuronas del NTM y la inhibición de la liberación de los otros neurotransmisores (H. Haas & Panula, 2003).

El receptor H4 es expresado mayormente por células de linaje hematopoyético, aunque se expresa en subpoblaciones de neuronas en los ganglios de la raíz dorsal (Passani & Blandina, 2011). Su función en el cerebro aún no está clara, pero se ha descrito inmunorreactividad de los receptores H4 en el tejido cerebral y las respuestas fisiológicas a los ligandos en el cerebro de ratón (Panula & Nuutinen, 2013)

Los receptores de histamina son objetivos prometedores para tratamiento de trastornos del estado de conducta, que abarcan desde la hipersomnia hasta el insomnio (H. L. Haas et al., 2008).

## **3.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.**

### **3.2.1. La influencia de la histamina en la narcolepsia.**

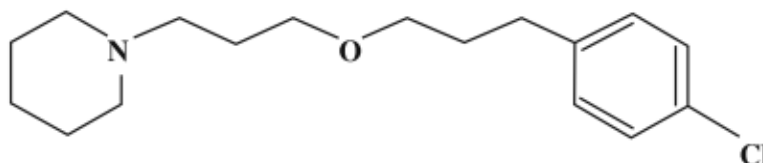
La función de la histamina en la vigilia es relevante para mantener el estado de alerta requerido para ejecutar las funciones cerebrales superiores (Alhusaini et al., 2022). El sistema histaminérgico, junto con el sistema orexinérgico del hipotálamo posterior, se encargan de la modulación del sueño y la vigilia (Alhusaini et al., 2022; Hu & Chen, 2017). Las neuronas histaminérgicas del NTM están marcadas como “selectivas para la vigilia”, presentando un patrón de descarga en el cual durante la transición de la vigilia al sueño dichas neuronas disminuyen su frecuencia de disparo durante la fase del SOL y permanecen en silencio durante la fase del sueño MOR; sin embargo, se reactivan los potenciales de acción tras la transición de sueño a la vigilia. Este patrón de descarga es el más selectivo al estado de vigilia dentro del sistema nervioso central (Alhusaini et al., 2022; Hu & Chen, 2017).

Estudios realizados en modelos caninos y humanos sugieren que la neurotransmisión central de histamina está disminuida en sujetos narcolépticos con alteraciones en la neurotransmisión de orexina (Kanbayashi et al., 2009). Los péptidos de orexina; que son esenciales en la regulación del ciclo sueño-vigilia, excitan el sistema histaminérgico a través del receptor 2 de orexina (Kanbayashi et al., 2009). Además, algunos estudios han informado niveles bajos de histamina en el líquido cefalorraquídeo en pacientes con narcolepsia y un aumento compensatorio en el número de neuronas histaminérgicas en el NTM (Hu & Chen, 2017). Estos resultados apoyan el concepto de que a niveles bajos de histamina se correlacionan con una menor vigilia y un aumento de la somnolencia (Panula & Nuutinen, 2013).

### **3.2.2. El pitolisant como tratamiento de la narcolepsia.**

El pitolisant es un derivado de N-piperidilo, es el primer antagonista del receptor H3 con efectos anticatapléjicos y promotores de la vigilia (véase Figura 14; Thorpy, 2020). El pitolisant fue aprobado por la Unión Europea el 31 de marzo de 2016 para el tratamiento de la narcolepsia (NT1 y NT2), con un rango de dosis aprobado de

4.5 a 36 mg/día, de acuerdo con la tolerancia y respuesta del paciente. En agosto del 2019, la FDA (*Food and Drug Administration*, por sus siglas en inglés) aprobó el pitolisant para el tratamiento de la somnolencia diurna excesiva en pacientes adultos con narcolepsia (Syed, 2016; Thorpy, 2020).



**Figura 14. Estructura química del pitolisant.** Es una molécula no quiral sin estereoisometría que corresponde químicamente al clorhidrato de 1-{3-[3-(4-clorofenil)propoxil]propil}piperidina. Modificado de Syed, 2016 y de Romigi, Vitrani, Lo Giudice, Centonze y Franco, 2018.

El mecanismo de acción del pitolisant está mediado de manera presináptica tras la activación de las neuronas histaminérgicas (Thorpy, 2020). Al ser un antagonista competitivo del receptor H3, bloquea el efecto inhibitorio de la histamina sobre la liberación endógena y mejora la liberación de histamina en todo el sistema nervioso central (Thorpy, 2020). Además de estimular la liberación de histamina, el pitolisant modula otros neurotransmisores involucrados en la promoción de la vigilia, como la dopamina, la noradrenalina y la acetilcolina (Romigi et al., 2018). Este compuesto es altamente selectivo, tras la ausencia de interacción significativa con casi un centenar de diversos receptores o canales a una concentración de 100 nM (Schwartz, 2011).

Se ha demostrado que el antagonista aumenta significativamente el recambio de histamina en el cerebro de ratas, siendo un punto clave para comprender el rol funcional de las neuronas histaminérgicas, ya que fue posible activar experimentalmente las transmisiones que involucran a estas neuronas (Schwartz, 2011; Syed, 2016). En estudios con biomodelos, el pitolisant aumentó la vigilia durante el periodo de oscuridad (activo) en los ratones narcolépticos, al igual que en los ratones de tipo salvaje. Además, redujo el número de episodios del sueño MOR característicos de la narcolepsia; los cuales se proponen como equivalentes a los episodios de cataplejía en pacientes narcolépticos (Schwartz, 2011; Syed, 2016).

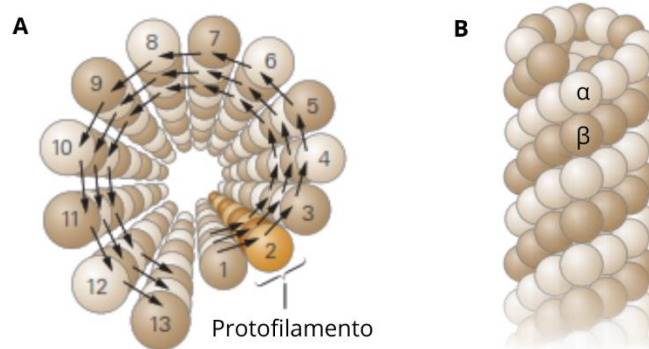
El pitolisant es un fármaco de primera clase con un mecanismo de acción novedoso y distintivo a comparación de las terapias farmacéuticas disponibles actualmente (Romigi et al., 2018). El pitolisant demuestra eficacia en el tratamiento de la somnolencia diurna excesiva y la cataplejía; aunque, su efecto sobre la somnolencia diurna excesiva no es mayor que el modafinilo, pero muestra menores efectos adversos (Fabara et al., 2021; Romigi et al., 2018). Otra ventaja del pitolisant es el lento potencial de abuso que posee a comparación con otros tratamientos farmacológicos. Por lo tanto, el pitolisant puede considerarse como una opción prometedora de primera línea de tratamiento para los síntomas más severos de la narcolepsia (Fabara et al., 2021; Romigi et al., 2018).

### **3.2.3. La rata *taiep* como un modelo de narcolepsia-cataplejía.**

En 1989, Holmgren y cols., describieron una nueva mutación espontánea en las ratas albinas Sprague-Dawley. En la generación F4 de una endogamia selectiva, observaron temblor fino en la cola y en la parte proximal de las extremidades posteriores, dando lugar al inicio de una nueva sublínea. Esta rata presentaba una serie de síntomas característicos, como temblor, ataxia, inmovilidad tónica, crisis epilépticas de tipo audiogénicas y parálisis progresiva de las extremidades posteriores. Se le denominó *taiep*, por un acrónimo basado en sus principales signos motores (Holmgren et al., 1989; Prieto et al., 1991).

La rata *taiep* presenta una mutación puntual en el gen *Tubb4a* que codifica la proteína Tubulina beta 4A cuyas características patológicas se han asociado a la leucodistrofia humana conocida como hipomielinización con atrofia de los ganglios basales y cerebelo (H-ABC, siglas en inglés; Alata et al., 2022; Garduno-Robles et al., 2020). La tubulina es esencial para la formación de microtúbulos, filamentos estructurales del citoesqueleto, los cuales están compuestos por heterodímeros de tubulina alfa y beta (véase Figura 15; Janke & Magiera, 2020). Específicamente, hay 10 genes que codifican a las  $\beta$ -tubulinas. Las  $\beta$ -tubulina 2a,  $\beta$ -2b,  $\beta$ -3 y  $\beta$ -4a se encuentran en el sistema nervioso, mientras que, la tubulina  $\beta$ -4a es característica de oligodendrocitos (Garduno-Robles et al., 2020). La mutación en el gen *Tubb4a*

se localiza en una región subtelo mérica del cromosoma 9 (Garduno-Robles et al., 2020). Siendo el responsable del fenotipo característico de la rata *taiep*.



**Figura 15. Organización estructural de los microtúbulos.** Los microtúbulos son cilindros helicoidales compuestos por 13 protofilamentos, y cada protofilamento está formado por una columna de subunidades de  $\alpha$ - y  $\beta$ -tubulina. Las subunidades adyacentes se unen entre sí a lo largo de los protofilamentos longitudinales y lateralmente entre subunidades adyacentes. Una molécula de tubulina es un heterodímero formado por una subunidad  $\alpha$ -y una subunidad  $\beta$ -tubulina. **A. Vista transversal de un microtúbulo.** Las flechas indican la dirección de la hélice hacia la derecha y como está conformado por los 13 protofilamentos de tubulina. **B. Vista lateral de un microtúbulo.** Se muestra la alternancia entre las subunidades  $\alpha$ - y  $\beta$ - tubulina, las cuales se unen para formar los heterodímeros. Modificado de Kandel, Schwartz, Jessell, Siegelbaum y Hudspeth, 2013.

Dicha mutación conlleva a una hipomielinización inicial al nacer, seguida de una desmielinización progresiva en el sistema nervioso central, pero no en el periférico. A nivel ultraestructural, se ha observado en los oligodendrocitos una acumulación anormal de microtúbulos en el citoplasma y sus procesos (Eguibar et al., 2009). A diferencia de otras mutantes de tubulina, la rata *taiep* tiene una expectativa de vida de 18 a 24 meses, y es capaz de reproducirse a pesar de presentar una enfermedad neurodegenerativa. Su singularidad radica en el deterioro neurológico crónico causado por la desmielinización y el hecho de que su mutación se hereda como un rasgo autosómico recesivo simple (Duncan et al., 1992).

Alrededor del primer mes de edad, las ratas *taiep* comienzan a mostrar el temblor de la cola y las extremidades posteriores, el cual aumenta con la edad alcanzando su máxima intensidad alrededor de los 3 meses. A los 4 meses, también se observa ataxia locomotora y del tronco (Prieto et al., 1991). A la edad de 5-6 meses, la rata *taiep* desarrolla episodios de inmovilidad (véase Figura 16), los cuales pueden

provocarse fácilmente al manipular al animal por la cola o el tórax; los machos tienden a ser más susceptibles que las hembras (Eguibar et al., 2014).



**Figura 16. Episodio de inmovilidad en una rata *taiep*.** La pérdida de reflejos posturales hace que el animal se vuelque, a consecuencia de la caída, la rata adopta una actitud de decúbito lateral. Modificado de Prieto, Urbá-Holmgren y Holmgren, 1991.

Los episodios de inmovilidad están caracterizados por una desincronización cortical, mostrando ondas de bajo voltaje y alta frecuencia asociadas al ritmo theta en el hipocampo, al igual que una reducción drástica del tono muscular hasta la atonía (Cortés et al., 2005; Eguibar et al., 2006). Además, la rata *taiep* también presenta patrones de sueños desorganizados a lo largo del ciclo circadiano, un sueño MOR fragmentado; durante la fase de luz presentan menor cantidad total de sueño MOR en comparación con las ratas Sprague-Dawley normales. Los episodios de inmovilidad en la rata *taiep* son similares a los episodios de cataplejía observados en la narcolepsia canina y humana; respaldando su uso como un modelo apto para el estudio de la narcolepsia-cataplejía (Cortés et al., 2005; Eguibar et al., 2006; Prieto et al., 1991).

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La narcolepsia es un trastorno del sueño crónico que afecta de 25 a 50 casos por cada 100,000 individuos a nivel mundial, considerado como un trastorno infradiagnosticado y causante de problemas graves en la calidad de vida de los pacientes; como problemas de conducta, desmotivación, depresión, etcétera (Kornum et al., 2017). Tales deficiencias, han logrado que las investigaciones brinden distintas terapias farmacológicas para disminuir los síntomas más severos de la narcolepsia.

La introducción de nuevos tratamientos farmacológicos, como el pitolisant; no solo mejoran la calidad de vida de los pacientes, sino que también abre nuevas posibilidades de investigación con otros enfoques y al ser un tratamiento relativamente reciente en el mercado, se vuelve indispensable el analizar el efecto terapéutico en un modelo animal de narcolepsia-cataplejía, como lo es la rata *taiep*.

## 5. JUSTIFICACIÓN.

La importancia de ampliar las opciones terapéuticas para los pacientes con narcolepsia radica en las limitaciones de los tratamientos farmacológicos actuales. Los antiguos tratamientos farmacológicos poseen al menos un componente psicoestimulante que promueve la neurotransmisión de dopamina y noradrenalina; sin embargo, esta estrategia no es apta para todos los pacientes debido a los efectos secundarios o la falta de eficacia en ciertos casos (Krief et al., 2021).

Por lo tanto, se ha explorado la estimulación de algún otro sistema de neurotransmisores, siendo la histamina una opción prometedora. La histamina presenta 3 de sus 4 receptores distribuidos en el sistema nervioso central. En particular, el receptor H1 regula la actividad cortical al estimular a las neuronas colinérgicas y serotoninérgicas; mientras que el receptor H3 es considerado como una diana farmacológica para el tratamiento de trastornos cerebrales, tanto para agonistas como para antagonistas (Hu & Chen, 2017). Los agonistas de los receptores H3 controlan la liberación de acetilcolina, que se ha relacionado con la vigilia y la atención. Por otro lado, los antagonistas del receptor H3, no basados en el imidazol, poseen una alta afinidad y selectividad, demostrando un valor potencial en el tratamiento de los trastornos del ciclo sueño-vigilia (H. Haas & Panula, 2003; Hu & Chen, 2017)

Bajo este contexto, el pitolisant un antagonista del receptor H3, es una terapia novedosa y con un amplio margen de investigación. Tras su reciente aprobación por la administración de drogas y alimentos (FDA, EUA), permitiendo su uso en distintos modelos animales para dilucidar todas las ventanas terapéuticas y optimizar su aplicación como tratamiento de la narcolepsia.

En este sentido, la rata *taiep* se considera como un modelo adecuado debido a la similitud de los síntomas de la narcolepsia-cataplejía en humanos, al presentar un sueño MOR fragmentado y la aparición de los episodios de inmovilidad cuando está sometido a estrés emocional; permitiendo evaluar de manera efectiva la eficacia y la seguridad del pitolisant (Prieto et al., 1991).

## **6. HIPÓTESIS.**

La administración del fármaco pitolisant regulará el ciclo sueño-vigilia e incrementará la duración de los periodos de vigilia en la rata *taiep*, confirmando la eficacia del fármaco como un tratamiento para la narcolepsia.

## **7. OBJETIVOS.**

### **7.1. Objetivo general.**

Determinar el efecto del fármaco pitolisant en la duración de los periodos de vigilia en el ciclo sueño-vigilia de la rata *taiep*.

### **7.2. Objetivo específico.**

- Cuantificar el tiempo de vigilia en la rata *taiep*.
- Identificar la dosis del fármaco pitolisant con mayor efectividad en la rata *taiep*.
- Demostrar la eficacia del fármaco pitolisant como tratamiento para la narcolepsia en la rata *taiep*.

## 8. MATERIAL Y MÉTODOS.

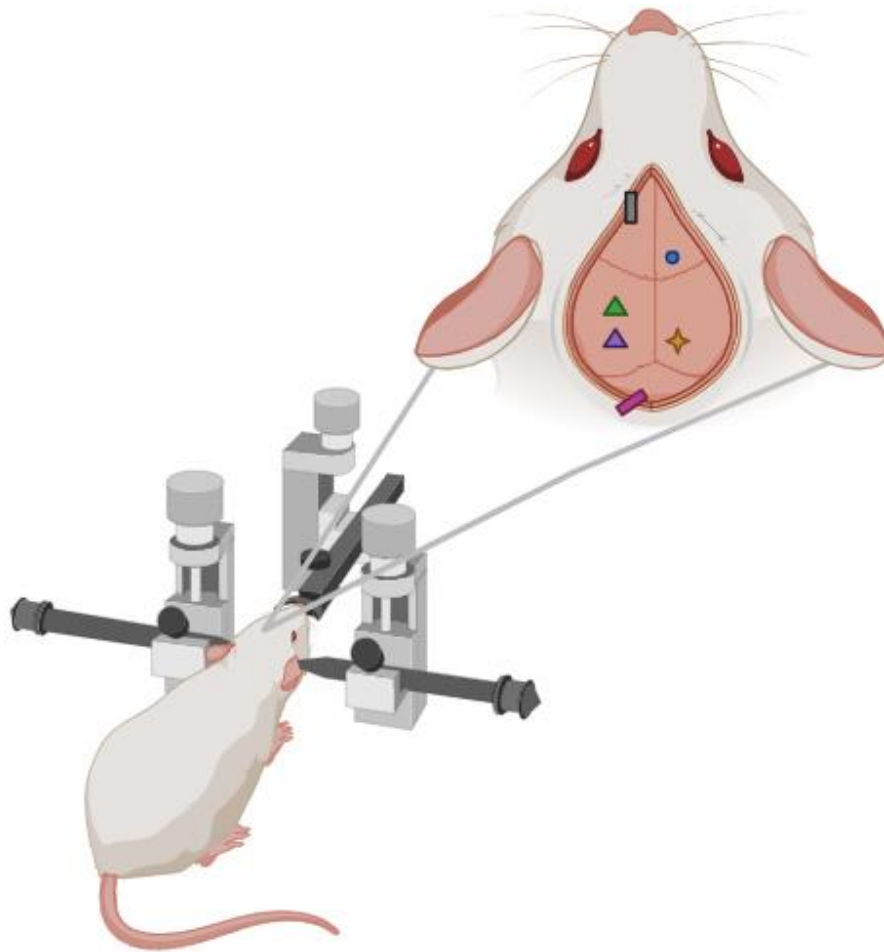
### 8.1. Sujetos.

Se utilizaron ratas *taiep* macho de 180 días postnatales, mantenidas en cajas de acrílico transparente con una cama de viruta de madera comprimida (Chip, EUA), agua purificada (Ciel <sup>TM</sup>, Coca-Cola Co., México) y alimento balanceado para roedores (LabDiet®, EUA) *ad libitum*. Mantenidas en el ciclo luz-oscuridad 12:12, (encendiéndose la luz a las 07:00 horas), temperatura regulada a  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  y humedad relativa de entre 30 a un 45%.

### 8.2. Cirugía estereotáxica.

En ratas *taiep* macho de  $170 \pm 5$  días postnatales de edad, se realizó la colocación del implante de electrodos, mediante cirugía estereotáxica y en condiciones de asepsia y antisepsia, utilizando un aparato estereotáxico tipo Kopf (Modelo 900LS, Stoelting, EUA). Las ratas fueron anestesiadas con isoflurano (Fluriso, VetOne, México) bajo inducción al 5% y en la fase mantenimiento del plano anestésico en una dosis del 1.5 - 2%. Posteriormente se aplica lidocaína al 10% (Pisacaína, PiSA®, México) como anestesia local en los canales auditivos para ser colocada y fijada en el aparato estereotáxico. Se limpia la zona con una solución de yodopovidona al 10% (Isodine®, México), posteriormente se realiza una incisión mediosagital con un bisturí a lo largo del cráneo y se remueve el periostio con una legra, se realizan 4 trépanos en las regiones frontal, parietal y occipital, de los cuales, 3 electrodos de tornillos de acero inoxidable son anclados; el trépano restante se emplea para la colocación de un electrodo bipolar de platino recubierto de teflón como aislante (Plastics One Inc., EUA) en la región CA1 del hipocampo del lado derecho, siguiendo las coordenadas estereotáxicas del atlas de Paxinos y Watson (2007): anteroposterior: -4 mm, mediolateral: -2.5 mm y dorsoventral: -2.5 mm, empleando la sutura de bregma como punto 0 de referencia estereotáxica. Adicionalmente, se colocan 3 electrodos de nicromio: 2 en los músculos de la nuca y uno en la parte posterolateral de la órbita ocular izquierda, para los registros electromiográficos y electrooculográficos, respectivamente, véase Figura 17. Para fijar los electrodos a la superficie ósea se utiliza acrílico dental (NicTone®, México).

Posterior a la cirugía, se proporcionan los cuidados postoperatorios pertinentes durante un periodo de recuperación de 5 días. Como analgésico, se administra meloxicam (Flaxol MX, Biochem Systems, México) a una dosis de 1 mg/Kg por vía subcutánea (s.c.), 30 minutos tras la intervención quirúrgica y durante los siguientes 3 días.



**Figura 17. Cirugía estereotáxica.** La rata *taiep* es montada en el aparato estereotáxico para la colocación del implante de electrodos. Con la colocación de 3 electrodos de tornillo inoxidable en la región frontal (círculo azul), región parietal (triángulo verde) y región occipital (triángulo morado); un electrodo de profundidad en el lado derecho de la región CA1 del hipocampo (rombo amarillo); y 3 electrodos de nicromio para electromiografía y electrooculografía, 2 en los músculos de la nuca (rectángulo rosa) y uno en la parte posterolateral de la órbita ocular izquierda (rectángulo negro). Creado con BioRender.com

### 8.3. Habitación pre-registro.

Las ratas son habituadas durante un período de 3 horas por 3 días en las condiciones de registro electroencefalográfico, conectadas a un sistema rotatorio tipo “swivel”, en cajas de acrílico transparente con una cama de viruta de madera

comprimida, agua y alimento *ad libitum* en un cuarto sonoamortiguado y eléctricamente aislado.

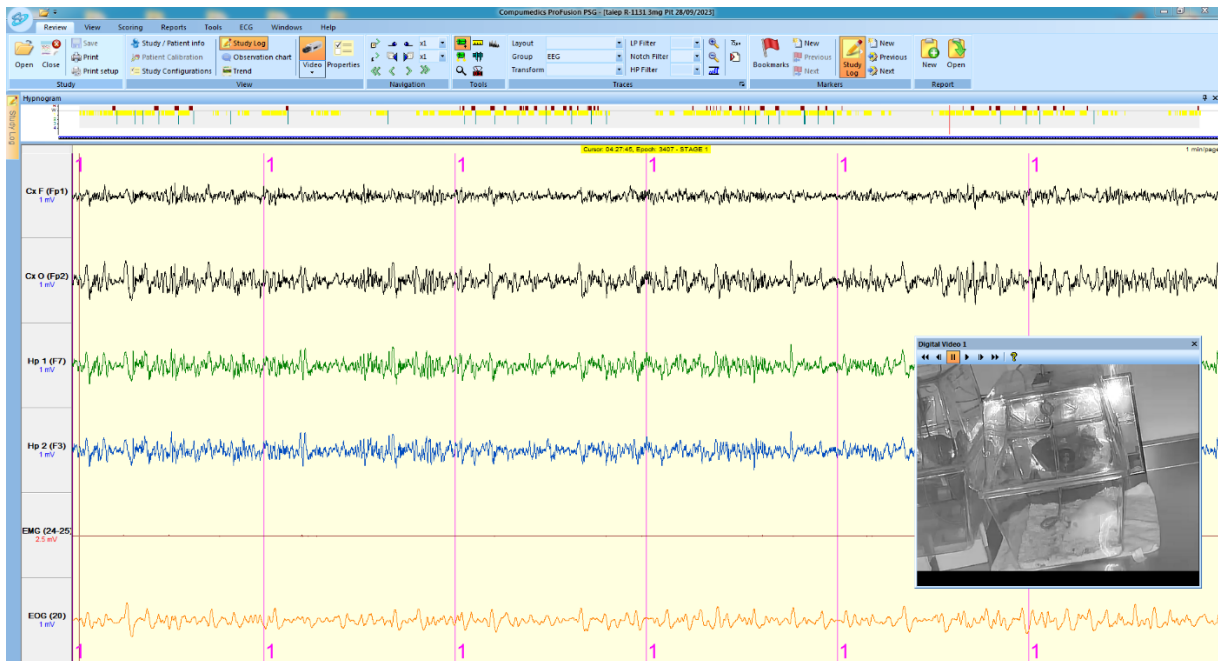
#### **8.4. Preparación y administración del fármaco.**

Para la preparación de la dosis utilizada en el registro control, se emplea únicamente agua inyectable (PiSA®, México) a una dosis de 1ml/Kg administrada por vía intraperitoneal (i.p.). En los registros experimentales se utilizan las dosis de 1 mg/Kg, 3 mg/Kg y 10 mg/Kg del fármaco pitolisant; el cual se disuelve en agua inyectable (PiSA®, México) y es administrado por vía i.p. Los cálculos correspondientes se realizan previo al pesaje del fármaco.

#### **8.5. Registro electroencefalográfico.**

Para obtener la actividad electroencefalográfica se utilizaron las ratas *taiep* macho a los 180 días postnatales, los registros se realizaron durante 12 horas, con inicio a las 19:00 horas tras realizar la administración a las 18:45 horas (J.-S. Lin et al., 2008). Se les realizó un registro control utilizando agua inyectable en una dosis 1 ml/kg vía intraperitoneal, y un día después se lleva a cabo el registro experimental con la administración del fármaco pitolisant en dosis creciente de 1, 3 y 10 mg/Kg vía intraperitoneal cada 48 horas.

Para la obtención del registro electroencefalográfico se utiliza la unidad para registro de EEG Grael LT System, (Compumedics®, Reino Unido) sincronizado a una cámara de vídeo de alta definición (Sony Handicam DCR-TVR260, Japón), para el registro del ciclo sueño-vigilia se obtiene la señal digitalizada en el programa NetBeacon v.1.0 (Network Router, Reino Unido) y para calificar los registros es por medio del programa Profusion Sleep 4 (Compumedics®, Reino Unido); véase Figura 18.



**Figura 18. Registro electroencefalográfico.** Registro electroencefalográfico de una rata *taiep* en el programa Profusion Sleep 4; note que el registro se encuentra acoplado a la video filmación de la conducta y se encuentra dividido en épocas de 10 segundos. En la señal de color negro se muestra la actividad de la corteza frontal y parietal, en verde y azul el registro de la región CA1 del hipocampo, en color rojo el electromiograma y en naranja el electrooculograma.

## 8.6. Evaluación del registro electroencefalográfico.

La evaluación de los registros electroencefalográficos fue ejecutada en el programa Profusion Sleep 4 (Compumedics®, Reino Unido). La señal fue ampliada, filtrada (EEG:0.5-30Hz, EMG:30-99Hz, EOG:0.5-4Hz) y digitalizada con una frecuencia de muestreo de 200 Hz. El registro obtenido se dividió en épocas de 10 segundos para el análisis de las fases del ciclo sueño-vigilia, siguiendo los criterios mostrados en la Tabla 4 y Figura 19. La calificación de los registros se realizó manualmente y se utilizó para obtener el hipnograma del ciclo sueño-vigilia. Las variables de sueño analizadas una vez concluida la calificación de los registros son las siguientes:

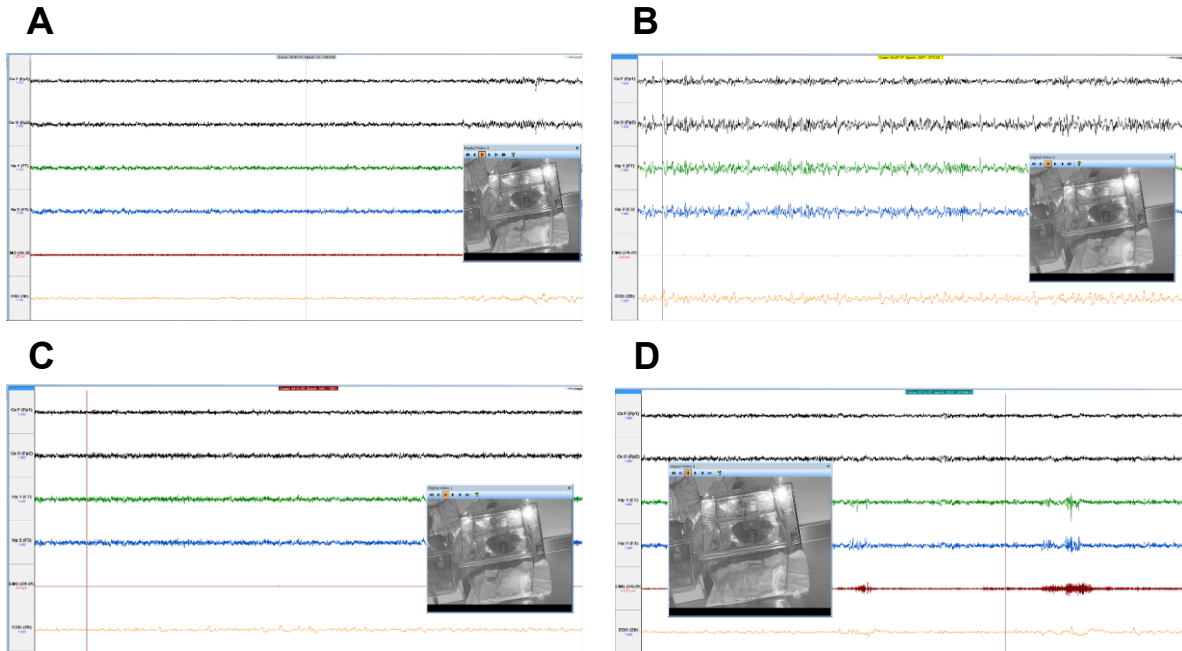
- Latencia. Se contabilizó el tiempo hasta la primera época de sueño MOR.
- Duración total. Se contabilizó el tiempo de vigilia, SOL y sueño MOR durante las 12 horas de registro.
- Número de episodios. Se contabilizó el número de episodios de vigilia, SOL y sueño MOR durante las 12 horas de registro.

- Duración promedio. Se contabilizó la duración total entre el número de episodios de vigilia, SOL y sueño MOR durante las horas de registro.

**Tabla 4. Criterios para la calificación del sueño con respecto a la actividad electroencefalográfica.**

	<b>Vigilia</b>	<b>Sueño de ondas lentas (SOL)</b>	<b>Sueño con movimientos oculares rápidos (MOR)</b>	<b>Episodios de Inmovilidad (EI)</b>
<b>EEG</b>	Actividad cortical beta de alta frecuencia (12-30 Hz) y baja amplitud	Actividad delta (0.5-4 Hz) de gran amplitud, aparición de husos de sueño y complejos K	Actividad beta rápida de baja amplitud, ritmo theta en hipocampo (4-7 Hz theta bajo y 7-12 Hz theta alto)	Actividad cortical desincronizada, ritmo theta en el hipocampo
<b>EMG</b>	Incremento variable del tono muscular	Disminución del tono muscular	Atonía muscular	Incremento del tono muscular seguido de una disminución progresiva
<b>EOG</b>	Movimientos oculares rápidos y lentos	Movimientos oculares de balanceo lento	Movimientos oculares rápidos	Movimientos oculares rápidos y lentos

Electroencefalograma (EEG), Electromiograma (EMG) y Electrooculograma (EOG)



**Figura 19. Registro electroencefalográfico del ciclo sueño-vigilia de una rata *taiep*.** Registro electroencefalográfico de una rata *taiep* resaltando cada etapa del ciclo sueño-vigilia y con video filmación de la conducta. **A)** fase de vigilia; note los múltiples trazos de actividad eléctrica en la corteza cerebral y el hipocampo con señales de alta frecuencia y baja amplitud, en el EMG se aprecia un trazo con variaciones en la señal, indicando un tono muscular activo y movimientos, mientras que, en el EOG se presentan fluctuaciones ligeras, reflejando los movimientos oculares espontáneos. **B)** fase del SOL; note que las señales mostradas en la corteza cerebral y el hipocampo muestran una frecuencia baja y alta amplitud, formando ondas más amplias y lentas, el EMG presenta una disminución en su señal o silenciamiento y en el EOG la actividad está disminuida, reflejando la ausencia de los movimientos oculares. **C)** fase de sueño MOR; note como la actividad de la corteza cerebral y del hipocampo es de alta frecuencia y baja amplitud semejante a la observada en la vigilia, pero a diferencia de esta, el EMG se encuentra totalmente reducida o nula, reflejando una atonía muscular y el EOG presenta una alta actividad, registrando los movimientos oculares rápidos, rasgo característico de esta fase del sueño. **D)** episodio de inmovilidad; note que la actividad de la corteza cerebral es alta frecuencia y baja amplitud, en el hipocampo se detecta una actividad con ritmo theta, en el EMG se presenta un incremento abrupto de la actividad al inicio del episodio, seguido de una disminución de esta y la actividad en el EOG es variable.

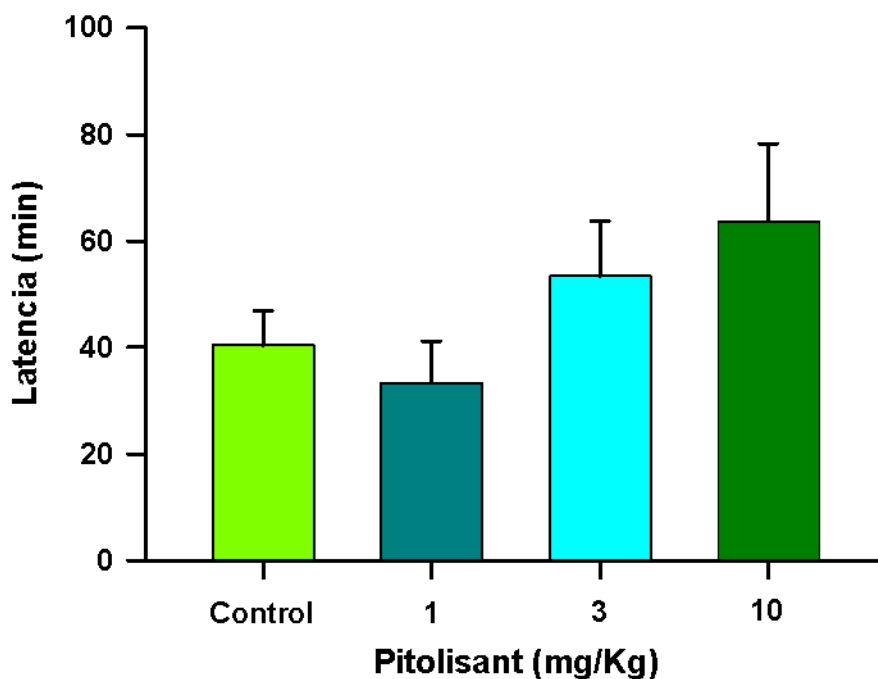
## 8.7. Análisis estadístico.

El análisis de los datos recopilados se llevó a cabo utilizando el programa Sigma-Plot v.14.0 (Grafiti LLC, EUA) para generar gráficos de la media  $\pm$  error estándar. Las pruebas estadísticas son realizadas en el programa Sigma-Plot v.14.0 (Grafiti LLC, EUA). Para comparar las diferencias entre el grupo control y el grupo experimental se empleó un análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA-MR) seguido de una prueba *post hoc* Dunnett. Se considera como diferencia significativa cuando el valor de  $p \leq 0.05$ .

## 9. RESULTADOS.

### 9.1. Latencia.

El análisis de latencia con las diferentes dosis de pitolisant probadas se realizó mediante una prueba ANOVA de medidas repetidas (véase Figura 20) obteniéndose ninguna diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). Se obtuvo un incremento en la latencia entre el grupo control y el grupo tratado con la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant en un 50%; mientras que, el grupo tratado con la dosis de 3 mg/Kg de pitolisant muestra solo 32.5% de incremento. Mostrando una tendencia al aumento de la latencia en relación con las dosis más altas.



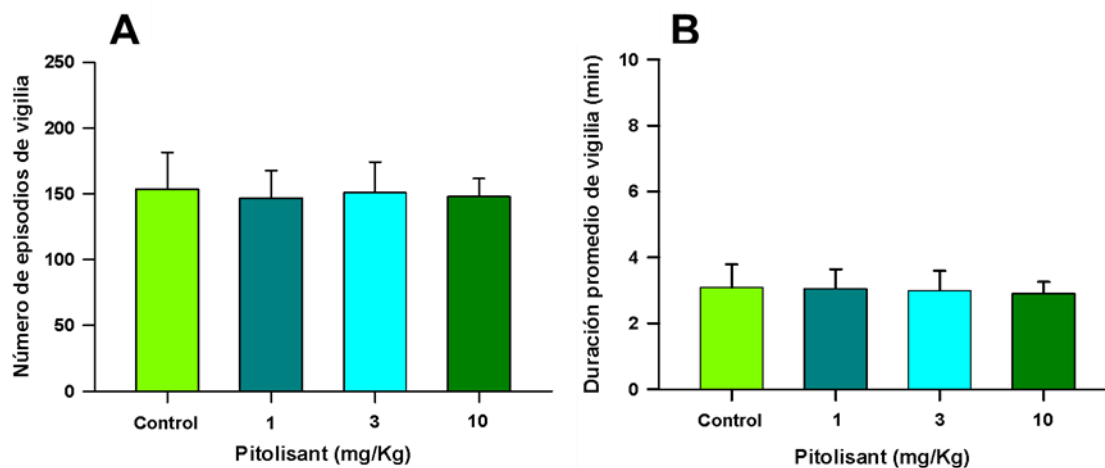
**Figura 20. Latencia al inicio del sueño con movimientos oculares rápidos en ratas *taiep* en condiciones control y con diferentes dosis de pitolisant.** Latencia al primer episodio de sueño MOR, no se muestran diferencias significativas entre el grupo control y los grupos tratados con dosis de 1, 3 y 10 mg/Kg pitolisant (ANOVA-MR  $F=1.68$ ,  $gl=3$ ,  $p > 0.05$ ). Aunque se muestra una reducción del 17.5% entre el grupo control y el grupo de 1mg/Kg de pitolisant, un incremento del 32.5% entre el control y el grupo de 3 mg/Kg de pitolisant y un incremento del 50% entre el control y el grupo de 10 mg/Kg de pitolisant. Indicando una tendencia en el retraso del primer episodio de sueño MOR con relación a dosis altas de pitolisant.

### 9.2. Vigilia.

Para analizar el estado de la vigilia en la rata *taiep* se contabilizó la frecuencia de los episodios de vigilia y su duración promedio (véase Figura 21), la duración total

cada 2 horas (véase Figura 22) bajo un análisis estadístico ANOVA de medidas repetidas. Adicionalmente se realizó un análisis de la duración total en intervalos de 15 minutos durante las primeras dos horas de los registros electroencefalográficos (véase Figura 23). Los cuales se analizaron con ANOVA de dos factores, para determinar si el factor circadiano interactúa con el factor dosis y su efecto en la duración de la vigilia.

Los resultados obtenidos tanto en la frecuencia promedio de los episodios de vigilia (Figura 21A) como en la duración promedio (Figura 21B) no muestran diferencias significativas entre el grupo control y los grupos de dosis de 1, 3 y 10 mg/Kg de pitolisant ( $p>0.05$ ).



**Figura 21. Frecuencia y duración promedio de la vigilia en ratas *taiep* en condiciones control y con diferentes dosis de pitolisant. A)** se observa como el grupo control y los grupos experimentales muestran una distribución muy semejante, en la cual no se presenta una diferencia significativa (ANOVA-MR  $F=0.97$ ,  $gl=3$ ,  $p>0.05$ ). **B)** se aprecia como entre el grupo control y los grupos experimentales muestran un comportamiento semejante sin cambios significativos (ANOVA-MR  $F=17.61$ ,  $gl=3$ ,  $p>0.05$ ).

En la duración total (véase Figura 22) se obtuvieron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de 10 mg/Kg de pitolisant, con un aumento en la duración de la vigilia en el periodo de tiempo de las 07:00 a 09:00 p.m. ( $p<0.01$ ), pero no se obtuvieron diferencias significativas en los otros intervalos de tiempo entre los grupos evaluados.

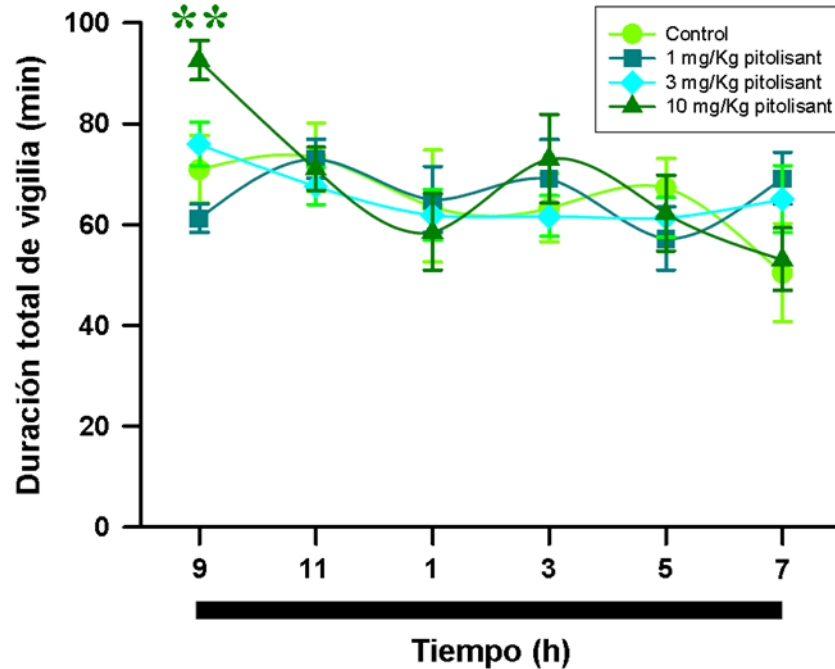
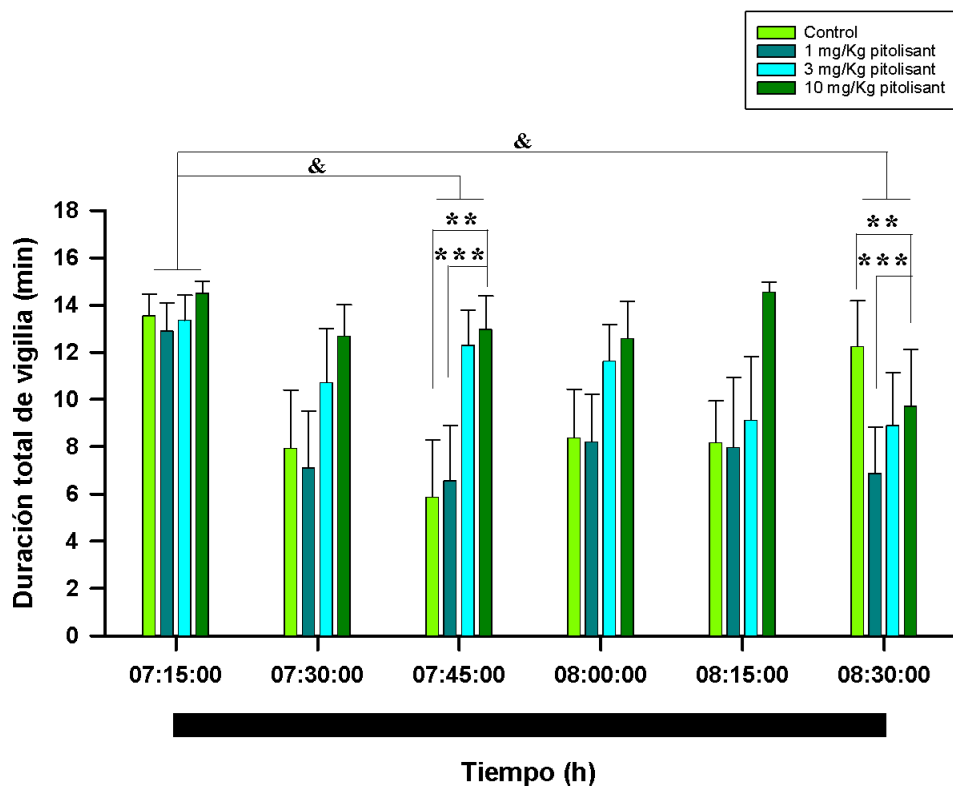


Figura 22. Duración total de la vigilia en ratas *taiep* evaluado a lo largo del tiempo bajo condiciones control y con diferentes dosis de pitolisant. El pitolisant aumenta significativamente en la duración total de la vigilia entre el grupo control y el tratado con 10 mg/Kg de pitolisant (ANOVA-MR  $F=9.58$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.01$ ) en el intervalo de tiempo de 07:00 a 09:00 pm. Sin embargo, no se muestran otras diferencias significativas entre los grupos con respecto al restante del tiempo evaluado.

Al realizar la prueba ANOVA de dos factores, siendo los factores las dosis utilizadas y la hora de registro. En la duración de la vigilia (véase Figura 23) se obtuvieron diferencias significativas entre las dosis ( $F=6.46$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.001$ ) y entre la hora del registro ( $F=2.8$ ,  $gl=5$ ,  $p<0.05$ ). Sin embargo, no se obtuvo una diferencia significativa entre la interacción de ambos factores ( $F=0.90$ ,  $gl=15$ ,  $p>0.05$ ), indicando que el efecto de la dosis no depende de la hora y viceversa. La dosis de 10 mg/Kg de pitolisant es significativamente distinta respecto de la dosis de 1 mg/Kg de pitolisant (Holm-Sidak,  $t=4.12$ ,  $p<0.001$ ) y del control (Holm-Sidak,  $t=3.13$ ,  $p<0.01$ ), que incrementa el tiempo en la duración de la vigilia. Mientras que, la hora 07:15 p.m. es significativamente distinta de las 07:45 p.m. (Holm-Sidak,  $t=3.06$ ,  $p<0.05$ ) y respecto de las 08:30 p.m. (Holm-Sidak,  $t=3.05$ ,  $p<0.05$ ).

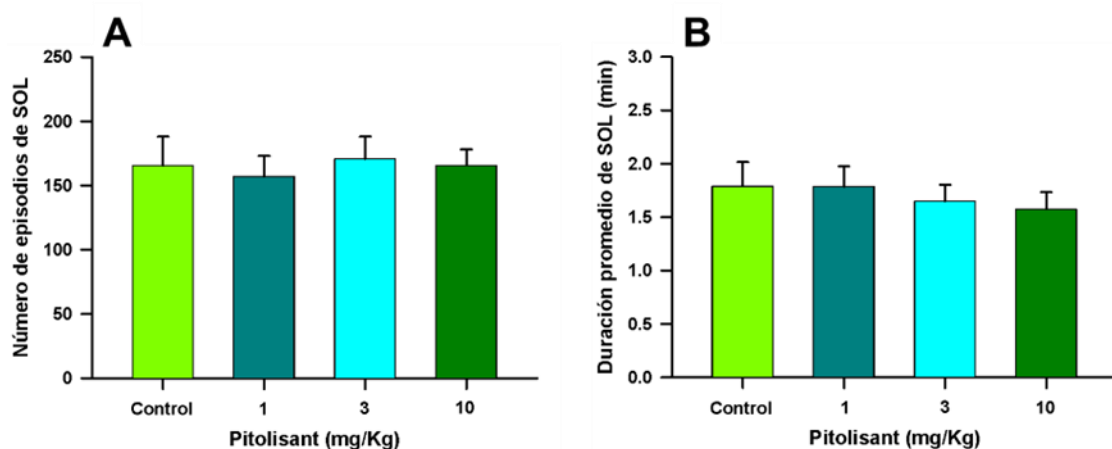


**Figura 23. Duración total de la vigilia en ratas *taiep* evaluado en intervalos de cada 15 minutos bajo condiciones control y con tratamiento de pitolisant. Los resultados obtenidos muestran una diferencia significativa entre las dosis (ANOVA  $F=6.46$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.001$ ), con un aumento significativo con la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant con respecto a la dosis de 1mg/Kg de pitolisant (Holm-Sidak,  $t=4.12$ ,  $***p<0.001$ ) y el control (Holm-Sidak,  $t=3.13$ ,  $**p<0.01$ ). Además, se obtuvo una diferencia significativa en diferentes horas (ANOVA 2  $F=2.8$ ,  $gl=5$ ,  $p<0.05$ ), con una disminución significativa entre las 07:15 p.m. contra las 07:45 p.m. (Holm-Sidak,  $t=3.06$ ,  $^{\&}p<0.05$ ) y las 8:30 p.m. (Holm-Sidak,  $t=3.05$ ,  $^{\&}p<0.05$ ). Sin una interacción significativa de ambos factores.**

### 9.3. Sueño de ondas lentas.

Al analizar el estado de SOL en la rata *taiep* se contabilizó la frecuencia de los episodios y su duración promedio (véase Figura 24), la duración total en intervalos de cada 2 horas (véase Figura 25) fueron analizados mediante ANOVA de medidas repetidas. Asimismo, se hizo un análisis de la duración total en SOL en intervalos de 15 minutos durante las primeras dos horas de los registros electroencefalográficos (véase Figura 26). Con un ANOVA de dos factores, para determinar el componente circadiano y la dosis de pitolisant y sus efectos en la duración del sueño de ondas lentas.

Los resultados obtenidos tanto en la frecuencia promedio de los episodios del SOL (Figura 24A), como en su duración promedio (Figura 24B) no muestran diferencias significativas entre el grupo control y los grupos tratados con 1, 3 y 10 mg/Kg de pitolisant ( $p>0.05$ ). No obstante, se obtuvo un incremento de un 3% entre el grupo control y el grupo tratado de 3 mg/Kg de pitolisant en los números de episodios de SOL. De igual manera, se obtuvo una reducción en la duración promedio entre el grupo control y la dosis de 3 mg/Kg de pitolisant de un 7.82%, y con la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant de un 12.29%.



**Figura 24. Frecuencia y duración promedio del sueño de ondas lentas en ratas *taiep* en condiciones control y con diferentes dosis de pitolisant. A)**, se observa como el grupo control y los grupos experimentales muestran una distribución muy semejante, sin diferencias significativas (ANOVA-MR  $F=0.34$ ,  $gl=3$ ,  $p>0.05$ ). Aunque se aprecia un incremento de un 3% entre el grupo control y el grupo de dosis de 3 mg/Kg de pitolisant. **B)**, La duración promedio en SOL no difirió significativamente entre el grupo control y los tratados (ANOVA-MR  $F=0.62$ ,  $gl=3$ ,  $p>0.05$ ). Sin embargo, es claro que disminuye entre el grupo control y las ratas *taiep* tratadas con 3mg/Kg de pitolisant de un 7.82% y una reducción hasta un 12.29% con la dosis de 10 mg/Kg pitolisant.

En la duración total del SOL (véase, Figura 25) se obtuvieron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de 10 mg/Kg de pitolisant, con una disminución en su duración en el intervalo de tiempo de las 07:00 a 09:00 p.m. ( $p<0.01$ ), pero no se obtuvieron diferencias significativas en otros intervalos de tiempo entre los grupos evaluados.

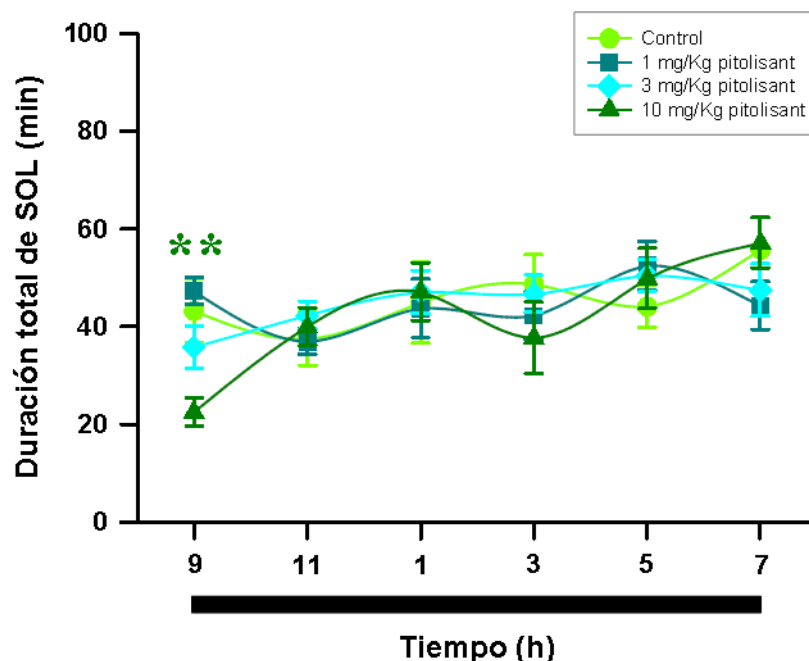
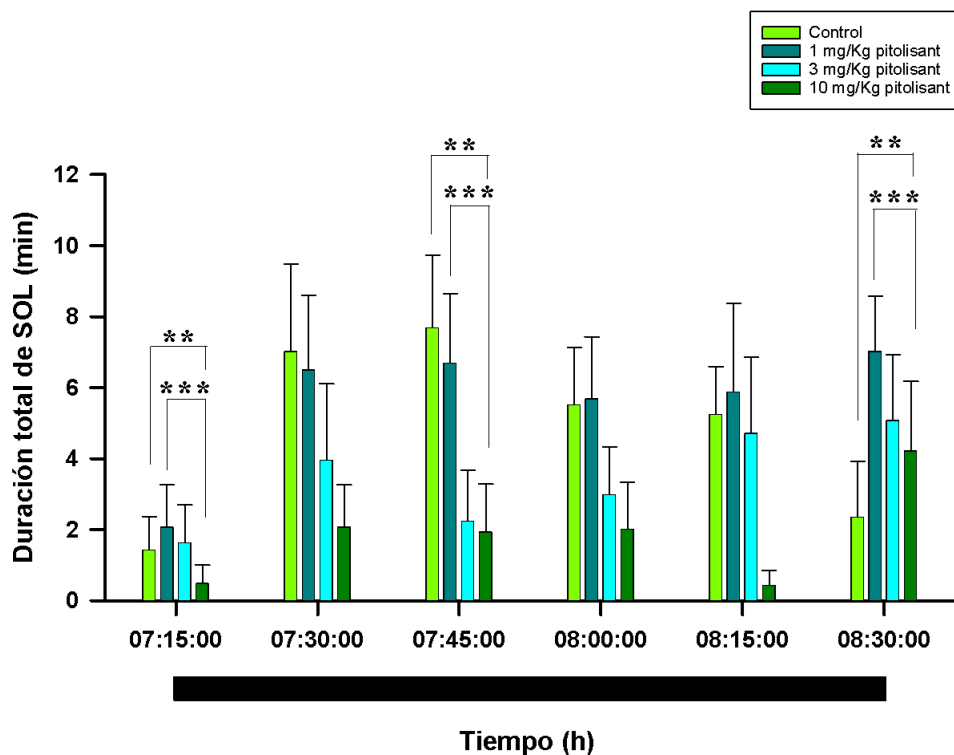


Figura 25. Duración total del sueño de ondas lentas en ratas *taiep* evaluado a lo largo del tiempo bajo condiciones control y con diferentes dosis de pitolisant. Existe un aumento significativo en la duración total del SOL entre el grupo control y los tratados con dosis de 10 mg/Kg de pitolisant (ANOVA-MR  $F=8.47$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.01$ ) en el lapso entre 07:00 y las 09:00 p.m., pero no en las demás horas de registro evaluado.

El ANOVA de dos factores, considerando a las dosis y las horas de registro en la duración del SOL (véase, Figura 26) se obtuvieron diferencias significativas entre las dosis ( $F=6.10$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.001$ ) y entre la hora del registro ( $F=2.44$ ,  $gl=5$ ,  $p<0.05$ ), pero no una interacción tiempo por duración ( $F=0.81$ ,  $gl=15$ ,  $p>0.05$ ), lo que indica que el efecto de la dosis no depende de la hora registrada y viceversa. La dosis de 10 mg/Kg es significativamente diferente con respecto a la dosis de 1 mg/Kg de pitolisant (Holm-Sidak,  $t=3.96$ ,  $p<0.001$ ) y de su respectivo control (Holm-Sidak,  $t=3.16$ ,  $p<0.01$ ), al disminuir la duración del SOL. No hay diferencias significativas entre los diferentes intervalos evaluados ( $p>0.05$ ).



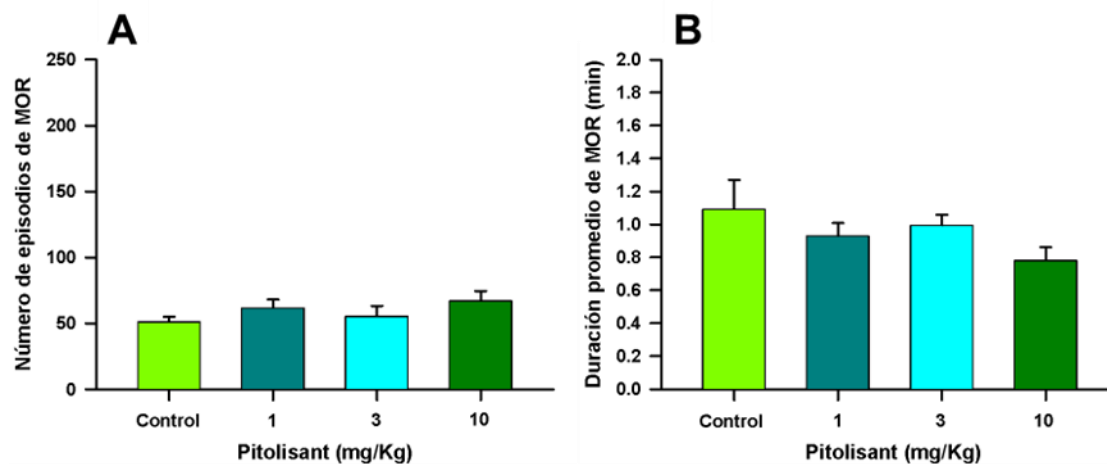
**Figura 26.** Duración total del sueño de ondas lentas en ratas *taiep* evaluado en intervalos de tiempo de 15 minutos bajo condiciones control y con tratamiento a diferentes dosis de pitolisant. Las dosis de pitolisant producen un efecto significativo en la duración total de SOL (ANOVA  $F=6.10$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.001$ ), siendo significativa con la dosis de 10 mg/Kg con respecto a la dosis de 1mg/Kg de pitolisant (Holm-Sidak,  $t=3.96$ ,  $***p<0.001$ ) y el control (Holm-Sidak,  $t=3.13$ ,  $**p<0.01$ ). Además, se obtiene una diferencia significativa entre las diferentes horas evaluadas (ANOVA 2  $F=2.44$ ,  $gl=5$ ,  $p<0.05$ ), pero en las comparaciones realizadas en el *post hoc* no se muestran diferencias significativas entre los pares de horas registradas ( $p>0.05$ ). Sin una interacción significativa.

#### 9.4. Sueño con movimientos oculares rápidos.

Para examinar el estado de sueño MOR en la rata *taiep* se contabilizó la frecuencia de los episodios y su duración promedio (véase Figura 27), así como la duración total evaluada cada 2 horas (véase Figura 28) con un análisis estadístico ANOVA de medidas repetidas. Además, se realizó un análisis de la duración total con unos cortos intervalos de tan solo 15 minutos durante las primeras dos horas de los registros electroencefalográficos (véase Figura 29) los cuales se realizaron con un ANOVA de dos factores, para determinar si el factor circadiano interactúa con el factor dosis y su efecto sobre la duración del sueño MOR.

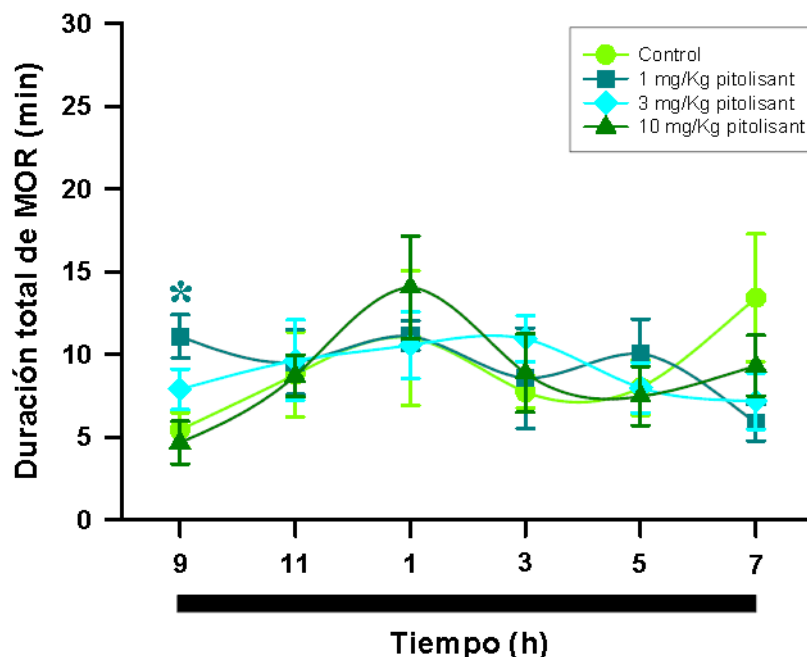
Los resultados obtenidos a partir de la frecuencia promedio de los episodios del sueño MOR (Figura 27A) como en su duración promedio (Figura 27B) no se

obtuvieron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos tratados con 1, 3 y 10 mg/Kg de pitolisant ( $p > 0.05$ ). El número de episodios tuvo un incremento respecto del grupo control en comparación a la dosis de 1 mg/Kg de pitolisant de un 22%, un aumento del 7% con la dosis de 3 mg/Kg de pitolisant y un incremento de hasta un 31.37% con la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant. Por otra parte, se obtuvo una reducción en la duración promedio del sueño MOR de un 22% con la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant con respecto al grupo control.



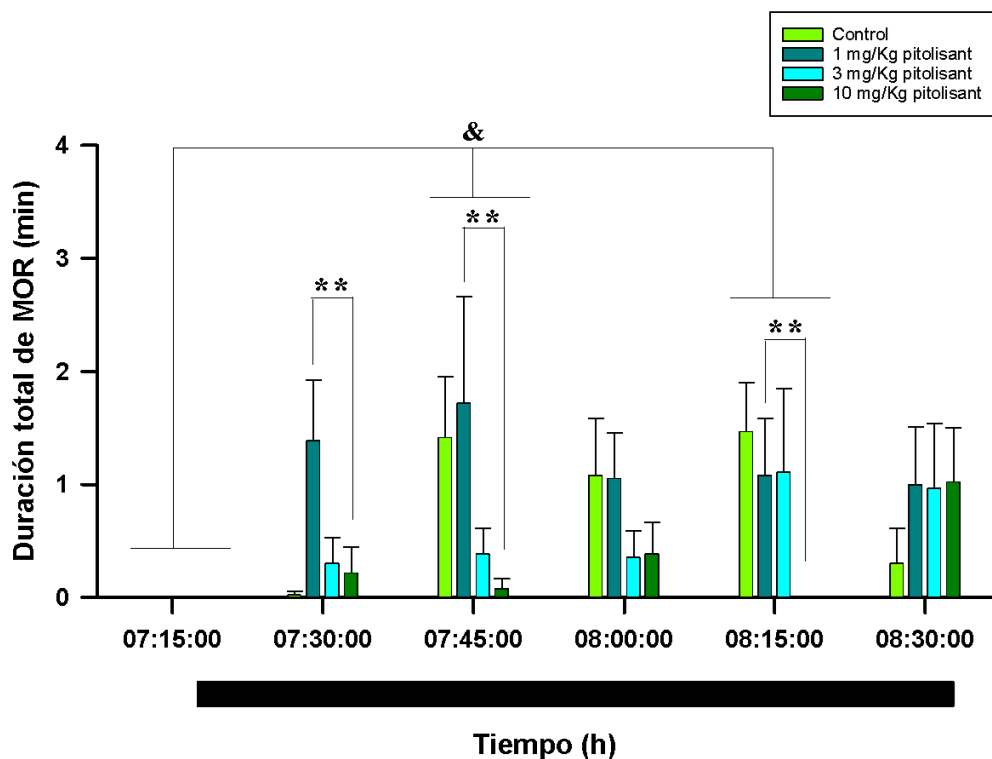
**Figura 27. Frecuencia y duración promedio del sueño con movimientos oculares rápidos en ratas *taiep* en condiciones control y con diferentes dosis de pitolisant.** **A)** se muestra como el grupo control y los grupos tratados con pitolisant no presentan una diferencia significativa (ANOVA-MR  $F=1.95$ ,  $gl=3$ ,  $p > 0.05$ ), pero muestran una variación mínima. Todas las dosis presentaron un aumento en el número de episodios con respecto al grupo control; del 22% en la dosis de 1mg/Kg de pitolisant, el 7% en la dosis de 3mg/Kg de pitolisant y del 31.37% en 10 mg/Kg de pitolisant. **B)** se muestra la duración promedio de los episodios del sueño MOR con valores relativamente consistentes y sin ser significativos (ANOVA-MR  $F=1.47$ ,  $gl=3$ ,  $p > 0.05$ ), pero se obtiene una ligera disminución en los grupos tratados con pitolisant en comparación con el grupo control, siendo más notorio con la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant con una reducción de un 22%.

En la duración total del sueño MOR (véase, Figura 28) se obtuvo una diferencia significativa entre el grupo control y la dosis de 1 mg/Kg de pitolisant con un incremento en su duración en el intervalo entre las 07:00 y las 09:00 p.m. ( $p < 0.05$ ), pero no se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos evaluados en los demás intervalos evaluados.



**Figura 28.** Duración total del sueño con movimientos oculares rápidos en ratas *taiep* evaluado a lo largo del tiempo bajo condiciones control y con diferentes dosis de pitolisant. Se obtuvo un aumento significativo en la duración total del sueño MOR entre el grupo control y el tratado con 1 mg/Kg de pitolisant (ANOVA-MR  $F=5$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.05$ ), en el periodo de tiempo comprendido entre las 07:00 y las 09:00 pm. Sin embargo, no se obtuvieron otras diferencias significativas entre los grupos en relación con el tiempo restante evaluado.

Al realizar la prueba ANOVA de dos factores, se consideró como factores las dosis empleadas y la hora de registro. En la duración del sueño MOR (véase, Figura 29) se obtuvieron diferencias significativas entre las dosis ( $F=3.64$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.05$ ) y entre la hora del registro ( $F=2.95$ ,  $gl=5$ ,  $p<0.05$ ), pero no se obtuvieron diferencias significativas en la interacción de ambos factores ( $F=1.28$ ,  $gl=15$ ,  $p>0.05$ ), lo que indica que el efecto de la dosis fue independiente de la hora. La dosis de 10 mg/Kg de pitolisant es significativamente diferente con respecto a la dosis de 1 mg/Kg de pitolisant (Holm-Sidak,  $t=3.19$ ,  $p<0.01$ ), al disminuir la duración del sueño MOR. Por otra parte, el análisis *post hoc* del tiempo circadiano evaluado, nos indica que la hora del registro de las 07:15 p.m. es significativamente distinta de las 07:45 p.m. (Holm-Sidak,  $t=3.11$ ,  $p<0.05$ ) y las 08:15 p.m. (Holm-Sidak,  $t=3.16$ ,  $p<0.05$ ).



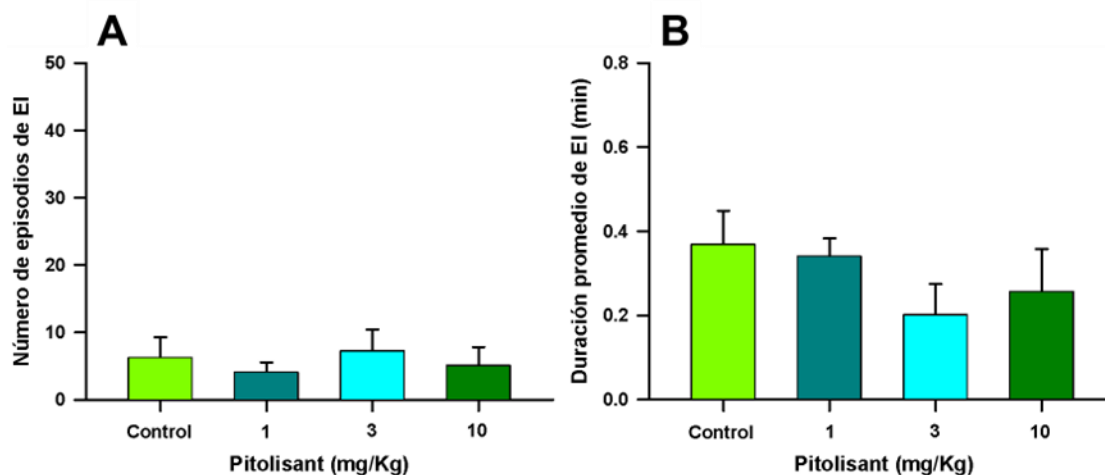
**Figura 29.** Duración total del sueño con movimientos oculares rápidos en ratas *taiep* evaluado en intervalos de tiempo cada 15 minutos bajo condiciones control y con los diferentes tratamientos de pitolisant. Se obtiene una diferencia significativa entre el factor de las dosis (ANOVA  $F=3.64$ ,  $gl=3$ ,  $p<0.05$ ), con una reducción significativa con la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant con respecto a la dosis de 1mg/Kg de pitolisant (Holm-Sidak,  $t=3.19$ ,  $**p<0.01$ ). Por otro lado, se obtiene una diferencia significativa en el factor de las horas (ANOVA  $F=2.96$ ,  $gl=5$ ,  $p<0.05$ ), con un aumento significativo entre las 07:15 p.m. contra las 07:45 p.m. (Holm-Sidak,  $t=3.11$ ,  $^{\&}p<0.05$ ) y las 8:15 p.m. (Holm-Sidak,  $t=3.16$ ,  $^{\&}p<0.05$ ), pero es nula la interacción de ambos factores ( $p>0.05$ ).

## 9.5. Episodios de inmovilidad.

Al analizar los episodios de inmovilidad (EI) en la rata *taiep* se contabilizó su frecuencia y su duración promedio (véase Figura 30), así como la duración total evaluada en intervalos de 2 horas (véase Figura 31); analizados con un ANOVA de medidas repetidas.

Los resultados obtenidos muestran que tanto en la frecuencia promedio de los episodios de inmovilidad (Figura 30A) como en su duración promedio (Figura 30B) no se obtuvieron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos tratados con 1, 3 y 10 mg/Kg de pitolisant ( $p>0.05$ ). Sin embargo, se obtuvo una disminución de un 34.28% con la dosis de 1 mg/Kg de pitolisant, y un incremento de un 15.8% en la dosis de 3 mg/Kg de pitolisant y una reducción de un 18.48% con

la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant con respecto al control. Mientras que, se obtuvo una reducción en la duración promedio de los episodios de inmovilidad de un 8.10% con la dosis de 1 mg/Kg, de hasta un 45.95% con la dosis de 3 mg/Kg y un 32.43% con la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant respecto del grupo control.



**Figura 30. Frecuencia y duración promedio de los episodios de inmovilidad en ratas *taiep* en condiciones control y con dosis de pitolisant. A)** Las ratas *taiep* tratadas con pitolisant no presentan una diferencia significativa (ANOVA-MR  $F=0.78$ ,  $gl=3$ ,  $p>0.05$ ), aunque se tienen diferencias ligeras en la frecuencia de los episodios. Se obtiene una disminución de un 34.28% en dosis de 1 mg/Kg de pitolisant, un aumento del 15.8% en dosis de 3 mg/Kg de pitolisant y una reducción del 18.48% en la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant. **B)** se muestra la duración promedio de los episodios inmovilidad sin cambios significativos (ANOVA-MR  $F=0.91$ ,  $gl=3$ ,  $p>0.05$ ) pero se aprecia una disminución de la duración entre los grupos tratados con pitolisant y el control. Dicha disminución de un 8.10% en la dosis de 1mg/Kg, y de un 45.95% en la dosis de 3 mg/Kg y de hasta un 32.43% en la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant.

En la duración total de los episodios de inmovilidad (véase, Figura 31) no se muestran cambios significativos entre el grupo control y las ratas *taiep* tratadas con pitolisant en el periodo de tiempo evaluado ( $p>0.05$ ). Se debe destacar que con la dosis de 3mg/Kg de pitolisant se tiene una mayor variabilidad en ciertos momentos y la dosis de 1 mg/Kg de pitolisant disminuyen la inmovilidad en algunas horas.

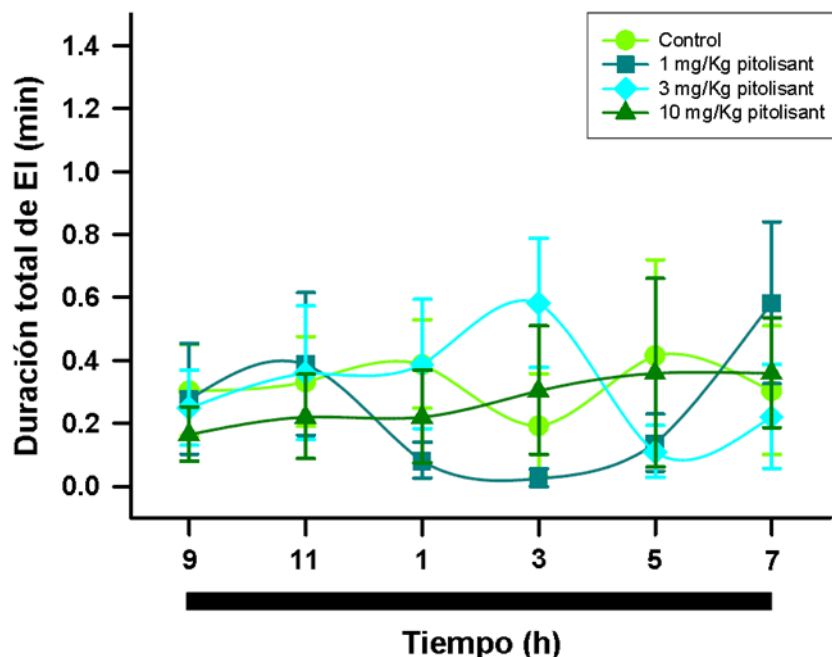


Figura 31. Duración total de los episodios de inmovilidad en ratas *taiep* evaluada a lo largo del tiempo bajo condiciones control y con diferentes dosis de pitolisant. No se presenta una diferencia significativa en la duración de los episodios de inmovilidad entre el grupo control con respecto al grupo de administración de pitolisant (ANOVA-MR  $F=0.25$ ,  $gl=3$ ,  $p>0.05$ ) en el periodo de tiempo evaluado.

### 9.6. Distribución temporal de las etapas del ciclo sueño-vigilia.

Se analizaron los porcentajes totales de la duración de las diferentes etapas del ciclo de sueño-vigilia en la rata *taiep* distribuidas a lo largo de las 12 h del registro control, y tras la administración de las dosis de 1 mg/Kg, 3 mg/Kg y 10 mg/Kg de pitolisant (véase Figura 32 y Tabla 5). La Figura 32 grafica los cambios en la arquitectura del sueño y la Tabla 5 representa de forma precisa estos resultados.

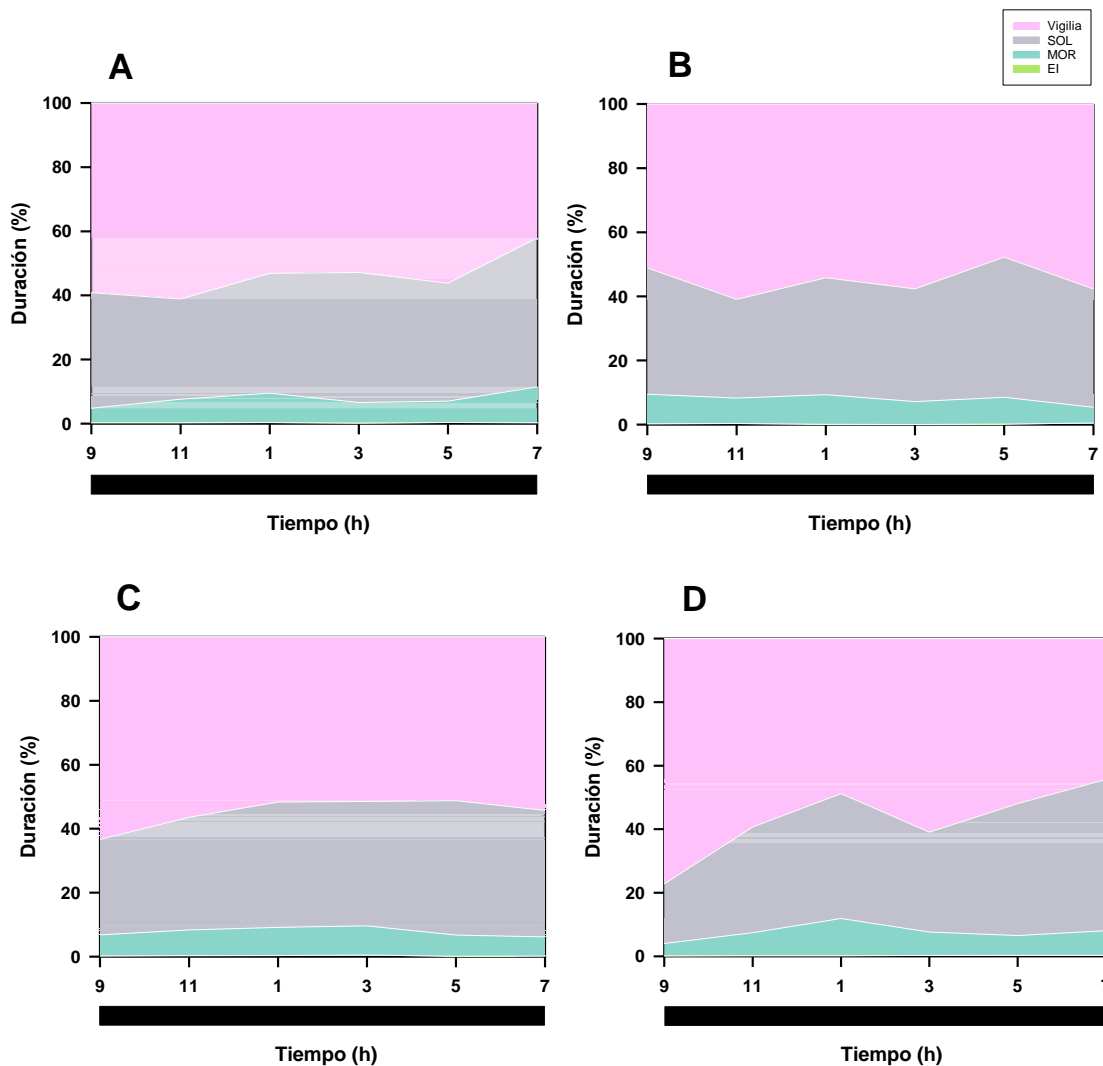
Hay que destacar cómo la distribución temporal del ciclo de sueño-vigilia en las ratas *taiep* cambia notablemente bajo la administración de pitolisant con respecto del control, principalmente con la dosis más alta. En esta condición, el porcentaje de vigilia total en las ratas *taiep* tratadas con 10 mg/Kg de pitolisant se incrementó un 57.06%; el porcentaje de SOL aumentó un 35.33% y en el sueño MOR se redujo un 7.36%. Aunque con las dosis de 1 y 3 mg/Kg de pitolisant también se muestran cambios con respecto del control, estos fueron menos notorios como los obtenidos en la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant.

**Tabla 5. Distribución porcentual total del ciclo sueño-vigilia.**

Condición	Vigilia	Sueño SOL	Sueño MOR	EI
Control	54.08	38.09	7.55	0.27
1 mg/Kg pitolisant	54.87	37.11	7.80	0.20
3 mg/Kg pitolisant	54.72	37.48	7.52	0.26
10 mg/Kg pitolisant	57.06	35.33	7.36	0.22

No obstante, se debe enfatizar que las diferentes etapas del ciclo sueño-vigilia fluctúan con el tiempo. En la Figura 32 se muestran los resultados en cuatro paneles que representan: **A)** la dosis control, **B)** la dosis de 1 mg/Kg de pitolisant, **C)** la dosis de 3mg/Kg de pitolisant y **D)** la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant. Siendo la vigilia la fase más conspicua, pero en el panel de la Figura 32D se obtuvo un aumento progresivo que fluctúa de entre un 40% hasta un 80% en la duración, mientras que en la Figura 32A y Figura 312B se muestra que oscilan entre un rango de un 50% hasta un 60%; mientras, en la Figura 32C la fase de vigilia se mantiene relativamente constante a lo largo del tiempo. La duración del SOL es más estable en todas las condiciones dentro de un rango de un 30% hasta un 50%, aunque en la Figura 32C y en la Figura 32D se presentan una ligera reducción inicial en comparación al grupo control (Figura 32A). Mientras que, la duración del sueño MOR obtienen los porcentajes más bajos que no superan un 10% de la duración total. Sin embargo, es notable la disminución en la duración del sueño MOR al inicio del registro como se muestra en la Figura 32D. Los episodios de inmovilidad en la Figura 32 se obtuvieron cambios que no superan el 1% bajo todas las condiciones.

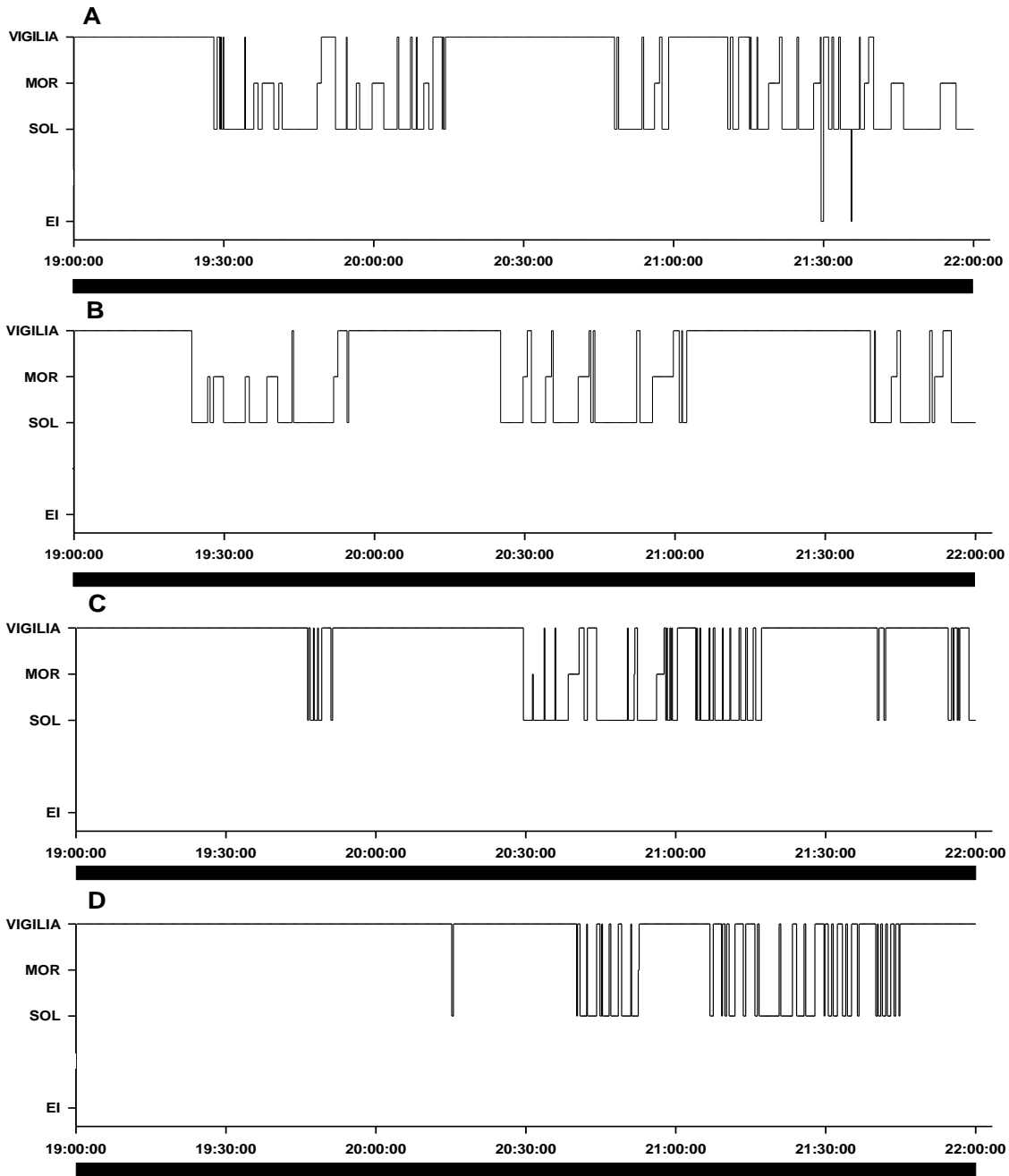
En general, los efectos del pitolisant en el ciclo sueño-vigilia de la rata *taiep* son más notorios con la dosis más alta, con un aumento de la vigilia y una reducción del sueño MOR en las primeras horas del registro.



**Figura 32. Distribución temporal de las etapas del ciclo sueño-vigilia en un periodo de 12h en ratas *talap* en condiciones control y bajo administración del fármaco pitolisant.** En la figura se muestra la representación del porcentaje del tiempo de registro total de cada etapa del ciclo sueño-vigilia. **A)** la condición control, **B)** la dosis de 1mg/Kg, **C)** la dosis de 3 mg/Kg y **D)** la dosis de 10 mg/Kg de pitolisant. Los colores indican los estados específicos: vigilia en color rosa, SOL en color lila, MOR en color azul y los episodios de inmovilidad en color verde. Nótese como la vigilia es el estado predominante en todas las condiciones, siendo más claro con la dosis más alta de pitolisant (**D**). El estado de SOL muestra una distribución relativamente estable con todos los tratamientos, pero en **C)** y **D)** se aprecia una reducción al inicio del registro en comparación con **A)**. El estado del sueño MOR mantiene porcentajes bajos en todos los grupos tratados, sin embargo; en **D)** note que hay una disminución notable al inicio del registro.

Para un análisis adicional de las variaciones entre las etapas del ciclo sueño-vigilia y las dosis de pitolisant administradas, se elaboraron los hipnogramas correspondientes en las 3 primeras horas de los registros electroencefalográficos (véase Figura 33).

En la Figura 33A que corresponde a la condición control se obtuvo una alternancia relativamente frecuente entre la vigilia y el sueño, por lo que se encuentra fraccionado y no hay una clara distribución, además de que la latencia al primer episodio de MOR fue más corta. La Figura 33B corresponde al grupo tratado con 1 mg/Kg de pitolisant se obtuvo un patrón similar al control, con los episodios de SOL y sueño MOR distribuidos a lo largo del periodo del registro, así como una ligera reducción en la fragmentación del sueño. En la Figura 33C se muestran los resultados obtenidos con 3 mg/Kg de pitolisant, en el cual el periodo de vigilia aumenta y el primer periodo de sueño MOR se retrasa en comparación con el grupo control, además en la primera mitad del periodo del registro se muestra una disminución del sueño MOR y en la segunda mitad el sueño MOR se fragmentan. En la Figura 33D se muestran los resultados de las ratas *taiep* tratadas con 10 mg/Kg de pitolisant, donde la vigilia es la más predominante, con muy pocas transiciones hacia el sueño en la primera parte del registro y con una latencia mayor comparada con respecto del control, y el sueño permanece fragmentado. En general, la administración del pitolisant aumenta la vigilia y reduce el sueño MOR de manera dosis-dependiente.



**Figura 33. Hipnogramas de una rata *taiep* en condiciones control y bajo tratamiento de pitolisant.** La representación gráfica del registro electroencefalográfico de las primeras 3h en una rata macho *taiep* de 6 meses de edad, con inicio del registro a las 07:00 p.m. En **A)** la condición control, en **B)** con administración de 1mg/Kg, en **C)** con administración de 3 mg/Kg y en **D)** con administración de 10 mg/Kg de pitolisant. Nótese como el primer periodo de vigilia incrementa conforme la dosis de pitolisant es más alta, al igual que el primer periodo de sueño MOR es retrasado, indicando una mayor actividad por parte de la rata. Los estados del ciclo sueño-vigilia se marcan con letras a la izquierda de cada hipnograma: VIGILIA; MOR, sueño con movimientos oculares rápidos; SOL, sueño de ondas lentas; EI, episodios de inmovilidad.

## 10. DISCUSIÓN.

A partir de los resultados mostrados, es claro que el pitolisant tuvo un efecto dosis-dependiente en las ratas *taiep* macho, el cual fue significativo en las primeras horas tras la administración de este, observándose una clara modulación del ciclo sueño-vigilia. Siendo la dosis de 10 mg/Kg la que produce los efectos más notables, al aumentar la vigilia y reducir el SOL, sueño MOR y retrasar la aparición de este último. Cabe la pena destacar que las dosis más bajas también mostraron efectos, pero estos fueron menos aparentes en comparación a la dosis alta de pitolisant empleada en este estudio.

En un estudio de Ligneau y colaboradores, reportaron que la administración de pitolisant a ratones provoca un efecto dosis-dependiente en la actividad histaminérgica (mediante la medición de los niveles de tele-metilhistamina) en el cerebro, y sus efectos persisten tras una administración continua por 17 días (Ligneau et al., 2007). Mientras que, en el estudio de Lin y colaboradores (2008), en ratones narcolépticos carentes del gen para la orexina (orexina -/-) el pitolisant aumenta significativamente los minutos que permanecen en vigilia y disminuyen el sueño MOR y SOL durante la fase activa del roedor. Además los periodos de la transición de la vigilia al sueño MOR directos se redujeron de manera significativa (J.-S. Lin et al., 2008). Estos resultados son similares a los obtenidos en nuestra investigación, al afirmar el efecto del pitolisant en el ciclo sueño-vigilia y el efecto dosis-dependiente obtenidos a partir de nuestros resultados. Sin embargo, en el estudio de Lin y colaboradores, se empleó una dosis de 20 mg/Kg de pitolisant, la cual es superior a las evaluadas en este trabajo.

También se han realizado varios ensayos clínicos, para evaluar la eficacia del pitolisant en pacientes que padecen narcolepsia. El Harmony 1 fue un ensayo de fase III, de ocho semanas de duración, aleatorizado, doble ciego con placebo de pitolisant (10-40 mg/día) en adultos con narcolepsia con o sin cataplejía, con modafinilo (100-400 mg/día) como comparador activo. En el que se observaron mejoras con respecto al valor basal en todos los grupos en la Escala de somnolencia de Epworth (ESS; de sus siglas en inglés), y en la latencia del sueño evaluados en

la prueba de mantenimiento de la vigilia; mostrando la eficacia del pitolisant con respecto al placebo, pero no se demostró una inferioridad con respecto al modafinilo (Lamb, 2020; Thorpy, 2020). Harmony Ibis, fue un ensayo controlado, aleatorizado de fase III, con una duración de ocho semanas, con un intervalo de dosis más bajo para el pitolisant (5-20 mg/día) y un diseño similar al Harmony 1. En todos los grupos en tratamiento, entre un 75 hasta 81% de los participantes tenían antecedentes de cataplejía. Al término de la semana 8, los cambios desde el inicio en las puntuaciones de la *ESS* no mostraron superioridad del pitolisant con respecto al placebo, pero el cambio en la latencia del sueño fue mayor con el pitolisant que con el placebo (Lamb, 2020; Thorpy, 2020).

Al comparar estos ensayos clínicos con nuestros resultados obtenidos, podemos resaltar la eficacia del pitolisant para incrementar la vigilia y retrasar la latencia al inicio del sueño. Es importante señalar que las dosis empleadas en nuestra investigación son similares al rango utilizado en el ensayo clínico Harmony Ibis, donde se describen explícitamente como dosis bajas. Esta diferencia en el esquema de dosificación podría explicar por qué los efectos observados en Harmony Ibis fueron menores en comparación a los reportados en Harmony 1 (Lamb, 2020).

Es crucial resaltar que nuestros resultados indican una mayor eficacia del pitolisant al inicio de los registros, que coincide con lo reportado por Lin y colaboradores (2008), quienes observaron una promoción en la vigilia y una supresión casi total del sueño MOR y del SOL durante un periodo de 3 a 6 horas tras su administración (J.-S. Lin et al., 2008). Este patrón sugiere un efecto inmediato del fármaco en las primeras horas tras su administración que tiende a decrecer progresivamente, lo cual corresponde a su farmacocinética.

El pitolisant es de absorción rápida, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas aproximadamente 3 h después de su administración. Su unión a proteínas séricas es superior a un 90% y se distribuye equitativamente entre los eritrocitos y el plasma, presentando una semivida en plasma de aproximadamente de entre 10 a 12 h y tras 5-6 días de dosificación regular se alcanza un estado estacionario (Lamb, 2020; Nandhini et al., 2024).

Dado que nuestros resultados mostraron un efecto agudo del pitolisant sobre el ciclo de sueño-vigilia en la rata *taiep*, es importante resaltar que, debido al diseño experimental utilizado, no se evaluaron los efectos a largo plazo. Sin embargo, el estudio clínico de Harmony III, dispone de los datos sobre eficacia y seguridad del pitolisant (hasta 40 mg/día) en un periodo de tiempo más prolongado. Este ensayo, de diseño: abierto, pragmático, de un solo brazo, multicéntrico y con una duración de 12 meses; incluyó a adultos con narcolepsia y somnolencia diurna persistente. Los pacientes que concluyeron el tratamiento de 12 meses (n=68) presentaron una disminución en la puntuación final de la *EES*. En pacientes con cataplejía (n=44), el número total de episodios de cataplejía disminuyó a un 68% (Lamb, 2020; Thorpy, 2020). Estudios preclínicos sugieren que el pitolisant tiene un bajo potencial de abuso. Esta propiedad se evaluó en un estudio cruzado aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo y comparador activo, con una duración de cuatro periodos, en consumidores no dependientes de estimulantes recreativos (n=43). Se compararon dosis únicas terapéuticas (35.6 mg) y supraterapéuticas (213.6 mg) de pitolisant con fentermina (60 mg) y placebo. Los resultados mostraron que, tanto el gusto por la droga como la disposición a volverla a ingerir para ambas dosis de pitolisant, fueron significativamente menores en comparación a la fentermina, y similares al placebo, indicando un riesgo mínimo de abuso (Thorpy, 2020). No obstante, sería necesario realizar estudios adicionales para confirmar este hecho, lo que se convierte en una perspectiva valiosa de investigación para nuestro laboratorio.

Un punto por destacar de nuestros resultados es que a la falta de diferencias significativas entre las dosis a lo largo del tiempo demuestra que estos factores son independientes y no están modulados por el tiempo circadiano. Esto probablemente repercute por la ejecución de los registros durante la fase oscura de las ratas *taiep*; los cuales se basaron en dos razones: primero, el pitolisant es un fármaco utilizado primordialmente para el tratamiento de la somnolencia diurna excesiva; segundo, las ratas son animales polifásicos y nocturnos; por lo que, su fase activa es durante la noche. Dado que nuestro objetivo fue evaluar el efecto del pitolisant, era vital realizar el estudio durante el periodo de mayor actividad de las ratas *taiep*.

En el presente trabajo, los resultados mostrados relacionados a los episodios de inmovilidad en las ratas *taiep* no mostraron cambios significativos. Sin embargo, se obtuvieron ligeras reducciones en la frecuencia y en la duración promedio de los episodios a las dosis altas de pitolisant con respecto al control. Este hallazgo sugiere que el fármaco a pesar de no tener un efecto notable si muestra un ligero efecto anticatapléjico, puesto que los episodios de inmovilidad descritos en la rata *taiep* son semejantes a la cataplejía observada en pacientes narcolépticos. El pitolisant ha demostrado en ensayos clínicos reducir el número de episodios de cataplejía (Fabara et al., 2021); pero se requiere de mayor investigación para confirmar esta posible relación en el modelo de la rata *taiep*.

El núcleo tuberomamilar y el hipotálamo posterior son estructuras anatómicas cruciales en la regulación y mantenimiento de la vigilia. Las neuronas histaminérgicas del núcleo tuberomamilar son activadas por la entrada de la señal GABAérgica del área preóptica ventrolateral, proyectándose a otras regiones cerebrales que controlan el ciclo sueño-vigilia, como es la corteza cerebral, el tálamo, el área preóptica, el tronco encefálico y el cerebro anterior, en donde la liberación de histamina esta estrictamente relacionada con el mantenimiento de la vigilia. Los receptores para histamina tipo 3, están ampliamente distribuidos en el sistema nervioso central, principalmente en la corteza cerebral, el hipotálamo, el hipocampo y los ganglios basales, ejerciendo un patrón de actividad tónico selectivo durante la vigilia en el cerebro (Sarfraz et al., 2022; Tiligada et al., 2011). Los antagonistas H3 son blancos prometedores para el tratamiento de la hipersomnolencia, mientras que los agonistas H3 podrían ser útiles para el control del insomnio (Tiligada et al., 2011). El receptor H3 se ha descrito como un autorreceptor y un hetero-receptor. En su función de autorreceptor, se encarga de retroalimentar de forma negativa la síntesis y liberación de histamina en las neuronas histaminérgicas; mientras que, como hetero-receptor muestra una interacción cruzada con otros neurotransmisores como la acetilcolina, la dopamina, la serotonina y la noradrenalina (Tiligada et al., 2011). Dado que el pitolisant es un antagonista selectivo al receptor H3 de histamina, su mecanismo de acción consiste en el bloqueo de los autorreceptores de histamina, aumentando la concentración y

la actividad histaminérgica en el cerebro. Este aumento en la concentración de histamina en el hipotálamo por el pitolisant ha sido implicado en el tratamiento de la somnolencia diurna excesiva y la cataplejía (Sarfraz et al., 2022). La modulación de los otros neurotransmisores se ha confirmado tras la administración i.p. de pitolisant tras aumentar la actividad en las vías dopaminérgicas y colinérgicas en la corteza prefrontal en la rata (Ghamari et al., 2019; Ligneau et al., 2007).

En la rata *taiep*, se ha estudiado el sistema orexinérgico con el objetivo de cuantificar y determinar la distribución de las neuronas productoras de orexinas; cuyos resultados mostraron que no existe una pérdida significativa de las neuronas de orexina (Espinoza-Pérez, 2019). A pesar de que las ratas *taiep* no presentan uno de los principales signos de la NT1, fueron consideradas como un modelo adecuado de narcolepsia-cataplejía, debido a su similitud en los episodios de inmovilidad a los ataques de cataplejía y a su fragmentación del sueño MOR descrita en pacientes narcolépticos. Por lo tanto, es importante destacar, que la narcolepsia es una enfermedad pleiotrópica en sus signos y síntomas debido a causas diversas; lo que nos permite afirmar que el fármaco pitolisant es un tratamiento eficaz para la narcolepsia, tanto para los pacientes que tienen cataplejía que corresponden a la NT1, como de aquellos que no tienen cataplejía también denominados como NT2.

Una limitante de este estudio fue la disponibilidad del fármaco pitolisant, ya que, al no ser de fácil acceso, nos vimos obligados a seleccionar un rango de dosis reducido. Las nuevas perspectivas que brinda esta investigación, sugieren un análisis del sistema histaminérgico en la rata *taiep* para determinar si existe un incremento o pérdida de su actividad; debido a que en estudios anteriores se ha informado niveles bajos de histamina en el líquido cefalorraquídeo en pacientes con narcolepsia y un aumento compensatorio en el número de neuronas histaminérgicas en el núcleo tuberomamilar (Hu & Chen, 2017). Además, sería de interés realizar estudios sobre el potencial de abuso o dependencia al pitolisant, así como el investigar los episodios de inmovilidad y/o crisis de ausencia bajo su efecto. Esto es relevante ya que recientemente se han realizado estudios para analizar el

efecto anticonvulsivo de los antagonistas del receptor tipo H3 de histamina en modelos de epilepsia (Sadek et al., 2016).

## 11. CONCLUSIONES.

- La rata *taiep* presenta un incremento en la duración de la vigilia y una reducción en la duración del sueño de ondas lentas y del sueño MOR tras la administración de pitolisant. Además, tiene un claro retraso en la latencia al sueño.
- El efecto del pitolisant en la regulación del ciclo sueño-vigilia en la rata *taiep* macho es dosis-dependiente, con los efectos más conspicuos con la dosis de 10 mg/Kg; mientras que, las dosis menores muestran efectos menos claros.
- El pitolisant ha demostrado eficacia en el tratamiento de la somnolencia diurna excesiva y la cataplejía, síntomas característicos de la narcolepsia; tanto en modelos animales como en ensayos clínicos en humanos. En el modelo de la rata *taiep*, nuestros resultados refuerzan su potencial terapéutico para el tratamiento de la narcolepsia.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AASM. (2024, agosto 6). *The AASM International Classification of Sleep Disorders – Third Edition, Text Revision (ICSD-3-TR)*. <https://aasm.org/clinical-resources/international-classification-sleep-disorders/>
- Aguirre-Navarrete, R. I. (2007). Bases anatómicas y fisiológicas del sueño. *Revista Ecuatoriana de Neurología*, 15(2–3).
- Alata, M., Piazza, V., Jaramillo-Restrepo, C., Eguibar, J. R., Cortes, C., & Hernandez, V. H. (2022). H-ABC tubulinopathy revealed by label-free second harmonic generation microscopy. *Scientific Reports*, 12(14417). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18370-x>
- Alhusaini, M., Eissa, N., Saad, A. K., Beiram, R., & Sadek, B. (2022). Revisiting Preclinical Observations of Several Histamine H3 Receptor Antagonists/Inverse Agonists in Cognitive Impairment, Anxiety, Depression, and Sleep–Wake Cycle Disorder. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 861094. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.861094>
- Ángeles-Castellanos, M., & Escobar, C. (2016). De la cronobiología a la cronomedicina. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 59(2), 15–23.
- Ángeles-Castellanos, M., Rodríguez, K., Salgado, R., & Escobar, C. (2007). Cronobiología médica. Fisiología y fisiopatología de los ritmos biológicos. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 50(6), 238–241.
- Ángeles-Castellanos, M., Rojas-Granados, A., Quezada-Martínez, J. R., Arellano-Rivera, E., Ruiz-Jiménez, D. A., Velázquez-Hernández, O. D., & Sánchez-Sánchez, M. (2023). Trastornos circadianos del sueño. *Revista de la Facultad de Medicina*, 66(2), 40–48. <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2023.66.2.06>

- Arias-Carrión, O. (2010). Narcolepsia y sistema hipocretinérgico. *Revista Médica de la UAS*, 1(4), 32–40.
- Benavides-Endara, P., & Ramos-Galarza, C. (2019). Fundamentos Neurobiológicos del Sueño. *Revista Ecuatoriana de Neurología*, 28(3), 73–80.
- Blumberg, M. S., Lesku, J. A., Libourel, P.-A., Schmidt, M. H., & Rattenborg, N. C. (2020). What Is REM Sleep? *Current Biology*, 30(1), R38–R49.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.11.045>
- Brown, R. E., Basheer, R., McKenna, J. T., Strecker, R. E., & McCarley, R. W. (2012). Control of Sleep and Wakefulness. *Physiological Reviews*, 92(3), 1087–1187.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00032.2011>
- Carskadon, M. A., & Dement, W. C. (2017). Normal Human Sleep. En *Principles and Practice of Sleep Medicine* (pp. 15-24.e3). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-24288-2.00002-7>
- Clement-Carbonell, V., Portilla-Tamarit, I., Rubio-Aparicio, M., & Madrid-Valero, J. J. (2021). Sleep Quality, Mental and Physical Health: A Differential Relationship. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(2), 460.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph18020460>
- Contreras, A. S. (2013). Sueño a lo largo de la vida y sus implicancias en salud. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(3), 341–349. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(13\)70171-8](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70171-8)
- Cortés, Ma. D. C., Gavito, B., Ita, M. L., Valencia, J., & Eguibar, J. R. (2005). Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on taiep rats. *Synapse*, 58(2), 95–101. <https://doi.org/10.1002/syn.20188>

- Dauvilliers, Y., & Barateau, L. (2017). Narcolepsy and Other Central Hypersomnias. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 23(4), 989–1004.  
<https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000492>
- Duncan, I. D., Lunn, K. F., Holmgren, B., Urba-Holmgren, R., & Brignolo-Holmes, L. (1992). The taiep rat: A myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. *Journal of Neurocytology*, 21(12), 870–884. <https://doi.org/10.1007/BF01191684>
- Eguibar, J. R., Cortés, M. C., & Ita, M. L. (2009). Serotonergic-postsynaptic receptors modulate gripping-induced immobility episodes in male taiep rats. *Synapse*, 63, 737–744.  
<https://doi.org/10.1002/syn.20655>
- Eguibar, J. R., Cortés, Ma. D. C., Ugarte, A., & León-Chávez, A. (2014). The Myelin Mutant Rat Taiep as a Model of Neuroimmunological Disease. *Advances in Neuroimmune Biology*, 5, 9–17. <https://doi.org/10.3233/NIB-140081>
- Eguibar, J. R., Cortés, Ma. D. C., Valencia, J., & Arias-Montaña, J. A. (2006). A2 Adrenoceptors are involved in the regulation of the gripping-induced immobility episodes in taiep rats. *Synapse*, 60, 362–370. <https://doi.org/10.1002/syn.20305>
- España, R. A., & Scammell, T. E. (2011). Sleep Neurobiology from a Clinical Perspective. *Sleep*, 34(7), 845–858. <https://doi.org/10.5665/SLEEP.1112>
- Espinoza-Pérez, K. G. (2019). *Estudio del sistema orexinérgico en un modelo animal de narcolepsia: La rata taiep* [Tesis de Licenciatura]. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Fabara, S. P., Ortiz, J. F., Anas Sohail, A., Hidalgo, J., Altamimi, A., Tama, B., & Patel, U. K. (2021). Efficacy of Pitolisant on the Treatment of Narcolepsy: A Systematic Review. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.16095>

- Fabres, L., & Moya, P. (2021). Sueño: Conceptos generales y su relación con la calidad de vida. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 32(5), 527–534.  
<https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2021.09.001>
- Fernandez, L. M. J., & Lüthi, A. (2020). Sleep Spindles: Mechanisms and Functions. *Physiological Reviews*, 100(2), 805–868. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2018>
- Foster, R. G. (2020). Sleep, circadian rhythms and health. *Interface Focus*, 10(3), 20190098.  
<https://doi.org/10.1098/rsfs.2019.0098>
- Garduno-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortes, C., Eguibar, J. R., Pantano, S., & Hernandez, V. H. (2020). MRI Features in a Rat Model of H-ABC Tubulinopathy. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 555. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00555>
- Ghamari, N., Zarei, O., Arias-Montaño, J.-A., Reiner, D., Dastmalchi, S., Stark, H., & Hamzeh-Mivehroud, M. (2019). Histamine H3 receptor antagonists/inverse agonists: Where do they go? *Pharmacology & Therapeutics*, 200, 69–84.  
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.04.007>
- Golden, E. C., & Lipford, M. C. (2018). Narcolepsy: Diagnosis and management. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 85(12), 959–969. <https://doi.org/10.3949/ccjm.85a.17086>
- Golombek, D. (2007). Introducción. La máquina del tiempo. *Cronobiología humana. Ritmos y relojes biológicos en la salud y en la enfermedad*, 2, 19–35.
- Haas, H. L., Sergeeva, O. A., & Selbach, O. (2008). Histamine in the Nervous System. *Physiological Reviews*, 88(3), 1183–1241. <https://doi.org/10.1152/physrev.00043.2007>
- Haas, H., & Panula, P. (2003). The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(2), 121–130.  
<https://doi.org/10.1038/nrn1034>

- Halle, S. (2006). Polyphasic Activity Patterns in Small Mammals. *Folia Primatologica*, 77(1–2), 15–26. <https://doi.org/10.1159/000089693>
- Hanin, C., Arnulf, I., Maranci, J., Lecendreux, M., Levinson, D. F., Cohen, D., & Laurent-Levinson, C. (2021). Narcolepsy and psychosis: A systematic review. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 144(1), 28–41. <https://doi.org/10.1111/acps.13300>
- Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L., & Vega-SaenzdeMiera, E. C. (1989). Sprague Dawley Rat Mutant with Tremor, Ataxia, Tonic Immobility Episodes, Epilepsy and Paralysis. *Laboratory Animal Science*, 39(3), 226–228.
- Hu, W., & Chen, Z. (2017). The roles of histamine and its receptor ligands in central nervous system disorders: An update. *Pharmacology & Therapeutics*, 175, 116–132. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.039>
- Janke, C., & Magiera, M. M. (2020). The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(6), 307–326. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0214-3>
- Johansson, M., & Köster, T. (2019). On the move through time – a historical review of plant clock research. *Plant Biology*, 21(S1), 13–20. <https://doi.org/10.1111/plb.12729>
- Jones, B. E. (2020). Arousal and sleep circuits. *Neuropsychopharmacology*, 45(1), 6–20. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0444-2>
- Kanbayashi, T., Kodama, T., Kondo, H., Satoh, S., Inoue, Y., Chiba, S., Shimizu, T., & Nishino, S. (2009). *Csf Histamine Contents in Narcolepsy, Idiopathic Hypersomnia and Obstructive Sleep Apnea Syndrome*. 32(2).
- Kompanje, E. J. O. (2008). ‘The devil lay upon her and held her down’ Hypnagogic hallucinations and sleep paralysis described by the Dutch physician Isbrand van

- Diemerbroeck (1609–1674) in 1664. *Journal of Sleep Research*, 17(4), 464–467.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2008.00672.x>
- Kornum, B. R., Knudsen, S., Ollila, H. M., Pizza, F., Jennum, P. J., Dauvilliers, Y., & Overeem, S. (2017). Narcolepsy. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 16100.  
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.100>
- Krief, S., Berrebi-Bertrand, I., Nagmar, I., Giret, M., Belliard, S., Perrin, D., Uguen, M., Robert, P., Lecomte, J., Schwartz, J., Finance, O., & Ligneau, X. (2021). Pitolisant, a wake-promoting agent devoid of psychostimulant properties: Preclinical comparison with amphetamine, modafinil, and solriamfetol. *Pharmacology Research & Perspectives*, 9(5), e00855. <https://doi.org/10.1002/prp2.855>
- Lakhiani, R., Shanavas, S., & Melnattur, K. (2023). Comparative biology of sleep in diverse animals. *Journal of Experimental Biology*, 226(14), jeb245677.  
<https://doi.org/10.1242/jeb.245677>
- Lamb, Y. N. (2020). Pitolisant: A Review in Narcolepsy with or without Cataplexy. *CNS Drugs*, 34(2), 207–218. <https://doi.org/10.1007/s40263-020-00703-x>
- Latorre, D., Sallusto, F., Bassetti, C. L. A., & Kallweit, U. (2022). Narcolepsy: A model interaction between immune system, nervous system, and sleep-wake regulation. *Seminars in Immunopathology*, 44(5), 611–623. <https://doi.org/10.1007/s00281-022-00933-9>
- Lee, J. Y., Lee, M. S., Lee, J. S., Halberg, F. E., Halberg, J., Schwartzkopff, O., & Cornélissen, G. (2015). A Tribute to Franz Halberg, MD. *Hypertension*, 66(6), 1090–1092.  
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06338>

- Lehnertz, K., Rings, T., & Bröhl, T. (2021). Time in Brain: How Biological Rhythms Impact on EEG Signals and on EEG-Derived Brain Networks. *Frontiers in Network Physiology*, 1, 755016. <https://doi.org/10.3389/fnetp.2021.755016>
- Lieberman, P. (2011). The basics of histamine biology. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 106(2), S2–S5. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2010.08.005>
- Ligneau, X., Perrin, D., Landais, L., Camelin, J.-C., Calmels, T. P. G., Berrebi-Bertrand, I., Lecomte, J.-M., Parmentier, R., Anaclet, C., Lin, J.-S., Bertaina-Anglade, V., La Rochelle, C. D., d’Aniello, F., Rouleau, A., Gbahou, F., Arrang, J.-M., Ganellin, C. R., Stark, H., Schunack, W., & Schwartz, J.-C. (2007). BF2.649 [1-(3-(4-Chlorophenyl)propoxy)propyl]piperidine, Hydrochloride], a Nonimidazole Inverse Agonist/Antagonist at the Human Histamine H<sub>3</sub> Receptor: Preclinical Pharmacology. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320(1), 365–375. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.111039>
- Lin, J. S. (2000). PHYSIOLOGICAL REVIEW ARTICLE: Brain structures and mechanisms involved in the control of cortical activation and wakefulness, with emphasis on the posterior hypothalamus and histaminergic neurons. *Sleep Medicine Reviews*, 4(5), 471–503. <https://doi.org/10.1053/smr.2000.0116>
- Lin, J.-S., Dauvilliers, Y., Arnulf, I., Bastuji, H., Anaclet, C., Parmentier, R., Kocher, L., Yanagisawa, M., Lehert, P., Ligneau, X., Perrin, D., Robert, P., Roux, M., Lecomte, J.-M., & Schwartz, J.-C. (2008). An inverse agonist of the histamine H<sub>3</sub> receptor improves wakefulness in narcolepsy: Studies in orexin<sup>-/-</sup> mice and patients. *Neurobiology of Disease*, 30(1), 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.12.003>
- Lo, C.-C., Chou, T., Penzel, T., Scammell, T. E., Strecker, R. E., Stanley, H. E., & Ivanov, P. Ch. (2004). Common scale-invariant patterns of sleep–wake transitions across

- mammalian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(50), 17545–17548. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408242101>
- Mahoney, C. E., Cogswell, A., Koralnik, I. J., & Scammell, T. E. (2019). The neurobiological basis of narcolepsy. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(2), 83–93. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0097-x>
- Mignot, E., Zeitzer, J., Pizza, F., & Plazzi, G. (2021). Sleep Problems in Narcolepsy and the Role of Hypocretin/Orexin Deficiency. En M. A. Steiner, M. Yanagisawa, & M. Clozel (Eds.), *Frontiers of Neurology and Neuroscience* (Vol. 45, pp. 103–116). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000514959>
- Miyagawa, T., & Tokunaga, K. (2019). Genetics of narcolepsy. *Human Genome Variation*, 6(1), 4. <https://doi.org/10.1038/s41439-018-0033-7>
- Nandhini, J., Karthikeyan, E., Jegatheshwaran, C., Vignesh, K., Muthuboopathi, G., & Rajeshkumar, S. (2024). Pitolisant nanofibers: A promising frontier in drug delivery for narcolepsy - Formulation, optimisation, and characterization insights. *Biomedical Technology*, 6, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.bmt.2023.10.002>
- Padilla-Gil, D. N. (2023). El sueño: Fisiología y homeostasis. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 15(1), e985. <https://doi.org/10.24188/recia.v15.n1.2023.985>
- Panula, P., & Nuutinen, S. (2013). The histaminergic network in the brain: Basic organization and role in disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(7), 472–487. <https://doi.org/10.1038/nrn3526>
- Passani, M. B., & Blandina, P. (2011). Histamine receptors in the CNS as targets for therapeutic intervention. *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(4), 242–249. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2011.01.003>

- Prieto, G. J., Urbá-Holmgren, R., & Holmgren, B. (1991). Sleep and EEG disturbances in a rat neurological mutant (taiep) with immobility episodes: A model of narcolepsy-cataplexy. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 79(2), 141–147. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(91\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0013-4694(91)90052-6)
- Ramos-Argüelles, F., Morales, G., Egozcue, S., Pabón, R. M., & Alonso, M. T. (2009). Técnicas básicas de electroencefalografía: Principios y aplicaciones clínicas. *An. Sist. Sanit. Navar.*, 32.
- Reinberg, A., & Ashkenazi, I. (2003). Concepts in human biological rhythms. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 5(4), 327–342. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2003.5.4/areinberg>
- Rémi, J., Pollmächer, T., Spiegelhalter, K., Trenkwalder, C., & Young, P. (2019). Sleep-Related Disorders in Neurology and Psychiatry. *Deutsches Ärzteblatt International*, 116, 681–688. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2019.0681>
- Romigi, A., Vitrani, G., Lo Giudice, T., Centonze, D., & Franco, V. (2018). Profile of pitolisant in the management of narcolepsy: Design, development, and place in therapy. *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 12, 2665–2675. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S101145>
- Roth, T. (2004). *Characteristics and Determinants of Normal Sleep*.
- Saavedra Torres, J. S., Zúñiga Cerón, L. F., Navia Amézquita, C. A., & Vásquez López, J. A. (2013). Ritmo circadiano: El reloj maestro. Alteraciones que comprometen el estado de sueño y vigilia en el área de la salud. *Morfología*, 5(3), 16–35.
- Sadek, B. S., Saad, A., Latacz, G., Kuder, K., Olejarz, A., Karcz, T., Stark, H., & Kieć-Kononowicz, K. (2016). Non-imidazole-based histamine H3 receptor antagonists with anticonvulsant activity in different seizure models in male adult rats. *Drug Design*,

*Development and Therapy, Volume 10, 3879–3898.*

<https://doi.org/10.2147/DDDT.S116192>

Sarfraz, N., Okuampa, D., Hansen, H., Alvarez, M., Cornett, E. M., Kakazu, J., Kaye, A. M., & Kaye, A. D. (2022). Pitolisant, a novel histamine-3 receptor competitive antagonist, and inverse agonist, in the treatment of excessive daytime sleepiness in adult patients with narcolepsy. *Health Psychology Research, 10*(2).

<https://doi.org/10.52965/001c.34222>

Sateia, M. J. (2014). International Classification of Sleep Disorders-Third Edition. *Chest, 146*(5), 1387–1394. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0970>

Scammell, T. E., Arrigoni, E., & Lipton, J. O. (2017). Neural Circuitry of Wakefulness and Sleep. *Neuron, 93*(4), 747–765. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.01.014>

Schiappa, C., Scarpelli, S., D'Atri, A., Gorgoni, M., & De Gennaro, L. (2018). Narcolepsy and emotional experience: A review of the literature. *Behavioral and Brain Functions, 14*(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12993-018-0151-x>

Schwartz, J. (2011). The histamine H3 receptor: From discovery to clinical trials with pitolisant. *British Journal of Pharmacology, 163*(4), 713–721.

<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01286.x>

Severin, E., Mațoță, A.-M., Bordeianu, A., & Jidovu, A. (2023). *Exploring the Literature on Narcolepsy: Insights into the Sleep Disorder That Strikes during the Day.*

<https://doi.org/10.20944/preprints202309.0819.v1>

Simasko, S. M., & Mukherjee, S. (2009). Novel analysis of sleep patterns in rats separates periods of vigilance cycling from long-duration wake events. *Behavioural Brain Research, 196*(2), 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.09.003>

- Syed, Y. Y. (2016). Pitolisant: First Global Approval. *Drugs*, 76(13), 1313–1318.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-016-0620-1>
- Szukiewicz, D. (2024). Histaminergic System Activity in the Central Nervous System: The Role in Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(18), 9859. <https://doi.org/10.3390/ijms25189859>
- Thorpy, M. J. (2020). Recently Approved and Upcoming Treatments for Narcolepsy. *CNS Drugs*, 34(1), 9–27. <https://doi.org/10.1007/s40263-019-00689-1>
- Tiligada, E., Kyriakidis, K., Chazot, P. L., & Passani, M. B. (2011). Histamine Pharmacology and New CNS Drug Targets. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 17(6), 620–628.  
<https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00212.x>
- Van Schie, M. K. M., Lammers, G. J., Fronczek, R., Middelkoop, H. A. M., & Van Dijk, J. G. (2021). Vigilance: Discussion of related concepts and proposal for a definition. *Sleep Medicine*, 83, 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2021.04.038>
- Velayos, J. L., Moleres, F. J., Irujo, A. M., Yllanes, D., & Paternain, B. (2007). Bases anatómicas del sueño. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 30.  
<https://doi.org/10.4321/S1137-66272007000200002>
- Yoshikawa, T., Nakamura, T., & Yanai, K. (2021). Histaminergic neurons in the tuberomammillary nucleus as a control centre for wakefulness. *British Journal of Pharmacology*, 178(4), 750–769. <https://doi.org/10.1111/bph.15220>