

TESI DOCTORAL

**Efecte dels neurolèptics en el son en
l'home.**

**Estudi amb neurolèptics atípics utilitzant
avaluacions polisomnogràfiques
tradicionals i quantificació de la
microestructura**

Sandra Giménez i Badia

Director de tesi: Dra. Rosa M^a Antonijoan

Director *Pòstum*: Dr. Manel Barbanoj

Departament de Farmacologia

Facultat de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2012

Als meus pares,
i Rafal, Júlia, Mar i Carla

AGRAÏMENTS

La presentació d'aquesta tesi va associada inexorablement a la figura del Dr. Manel Barbanoj, que per desgracia ens va deixar fa una mica més d'un any.

Gràcies Manel!

Gràcies per haver-me donat la oportunitat de conèixer-te, de compartir el teu entusiasme, coneixements i idees brillants. T'estaré eternament agraïda per tot el teu suport, dedicació, paciència i tossuderia en l'aprenentatge de que res és impossible i que tot és important. Però sobretot, i més enllà de la ciència, gràcies pel teu *tarannà* i caràcter gairebé sempre amable, insistent, humil i conciliador que han contribuït, contribueixen i contribuiran, molt significativament en la meva formació i creixement laboral i personal. Estic convençuda que estiguis on estiguis ara també somriuràs satisfet de la feina realitzada.

En la seva malaurada, injusta i trista absència, no puc sinó expressar la meva més immensa gratitud a la Dra. Rosa M^a Antonijoan per haver acceptat la difícil tasca de continuar dirigint aquesta feina ja començada. Gràcies Rosa per tota l'ajuda, ànims i recolzament laboral i personal que, tot i sabent l'esforç que representen, has dispensat amb la millor voluntat i disposició possibles.

Gràcies a tot el personal del CIM per haver fet aquest treball possible.

En particulara la Montse Puntès, Liria da Graça, al David Martínez, la Eva Grasa, la Lúcia Benito i l'Adelaida Morte, per la seva col·laboració en la recollida de les dades experimentals. A l'ignasi Gich per la seva disponibilitat i immensa ajuda en l'anàlisi

estadístic. A l'Ángeles Funes i a la Carolyn Newey per la seva ajuda en l'edició dels manuscrits.

... i molt especialment al Sergio i a la Susana per la vostra inestimable ajuda i els bons moments passats.

Per davant de tot però, gràcies papes. Gràcies per ser com sou, pels vostres ensenyaments, i per la vostra eterna paciència i omnipresent ajuda en tots els aspectes possibles, sempre amb la millor de les millors maneres. Em fa molt contenta saber que estareu molt feliços i orgullosos de que hagi finalitzat aquesta tesi.

Als bons amics, per ser-hi sempre i amb suport incondicional.

...i la meva petita gran família ☺!; Rafal (t'estimo per absolutament tot) i les meves patufetes Júlia, Mar i Carla, per fer que cada dia comenci i acabi amb un somriure.

RESUM DE LA TESI DOCTORAL

Des de la seva introducció al 1950, els neurolèptics són fàrmacs àmpliament utilitzats en el tractament de l'esquizofrènia i d'altres trastorns psiquiàtrics. Aquests fàrmacs actuen sobre diferents sistemes neuronals que estan implicats tan en la fisiologia d'aquests trastorns com en la regulació del cicle vigília-son, pel que el coneixement dels efectes dels neurolèptics sobre el son resulta indispensable.

La polisomnografia (PSG) és el mètode exploratori *gold standard* que permet conèixer la activitat cerebral durant el son i objectivar els canvis que es succeeixen en aquests després de l'administració farmacològica. La importància d'aquestes dades s'accentua quan s'han observat correlacions entre canvis de variables específiques electroencefalogràfiques (EEG) de son i aspectes clínics de la malaltia en pacients esquizofrènics en tractament amb neurolèptics.

Els neurolèptics en general, milloren la quantitat i qualitat del son. No obstant, malgrat les diferents investigacions realitzades per establir correlacions entre la neurofisiopatologia de la esquizofrènia i les alteracions polisomnogràfiques i l'impacte del tractament farmacològic en aquestes, encara no s'ha pogut establir un consens definitiu de si el son millora per l'efecte directe de la medicació en el patró de vigília-son o com a conseqüència indirecte de la millora de la situació clínica general.

Les discrepàncies entre les dades reportades dels efectes dels neurolèptics sobre el son responen en gran mesura als límits metodològics existents entre els diferents estudis: hi ha diferències en la definició de l'esquizofrènia, en la inclusió de pacients de diverses edats, sexe i fases de la malaltia, en els mètodes d'anàlisi, tipus o duració del tractament. Específicament en aquests darrer punt, les diferències entre els estudis per avaluar els efectes polisomnogràfics dels antipsicòtics tenen nombroses dificultats

adicionals. La majoria no tenen grup control amb placebo, presenten diversitat en les dosis administrades, distints temps d'administració, insuficients períodes de blanqueig, utilitzen altres drogues concomitants que poden modificar el son, o simplement s'avaluen els efectes globalment malgrat s'estudiïn diferents antipsicòtics alhora.

Un altre aspecte rellevant que condiciona resultats contradictoris són els diferents mètodes d'anàlisi emprats en la valoració dels efectes dels neuroleptics sobre el son. Molts són realitzats només amb valoracions subjectives de qualitat de son, integrades en escales de millores en la malaltia o de qualitat de vida. Tanmateix, la majoria dels anàlisis objectius obtinguts a partir de les dades PSG s'analitzen mitjançant l'anàlisi visual tradicional (Rechtschaffen and Kales), que, si bé és un mètode de gran utilitat a la pràctica clínica per al diagnòstic de les diferents patologies del son, proporciona una informació insuficient sobre els canvis en la continuïtat del son.

Es davant la disjuntiva entre la importància de l'estudi conjunt de l'esquizofrènia i el seu tractament en el son i de la incapacitat de consensuar dades donat les limitacions metodològiques existents que s'origina la línia d'investigació central d'aquesta tesi: *avaluar l'efecte dels neuroleptics en el son en l'home.*

Per aconseguir aquest objectiu principal s'investiguen tres objectius específics.

En un primer estudi s'avalua l'efecte de dos antipsicòtics atípics diferents (olanzapina i risperidona) en comparació amb un antipsicòtic típic (haloperidol) en subjectes sans, utilitzant mètodes d'avaluació subjectius i objectius. Els efectes objectius s'analitzen mitjançant mètodes d'anàlisi polisomnogràfics visuals tradicionals (R&K), per poder comparar amb dades PSG prèvies, i amb mètodes addicionals de quantificació de la microestructura del son, per anàlisi espectral. Els resultats mostren canvis significatius subjectius i objectius en ambdós mètodes d'anàlisi de les variables electroencefalogràfiques (EEG) en el son, diferents segons el perfil

neuroquímic de cada compost, inclús 15 hores després de la seva administració. Aquestes dades en l'aplicació pràctica clínica habitual, posen en evidència una avantatge addicional a l'eficàcia antipsicòtica dels diferents neurolèptics, ja que ofereix la possibilitat de seleccionar un neurolèptic específic en els pacients psiquiàtrics segons l'alteració de son que presentin. Tanmateix, el fet de que aquests efectes siguin evidents 15 hores després de la seva administració obliga a tenir present en la praxis mèdica que l'impacte d'aquests fàrmacs en el son de nit es succeeix també si es prescriuen al matí.

En un segon estudi s'avalua la rellevància d'aquests canvis EEG dels antipsicòtics en el son en el continu vigília-son de 24 hores, doncs la possibilitat d'utilitzar els índex EEG (de vigília i son) com a marcadors de la propensió al son té implicacions pràctiques molt importants en l'avaluació dels efectes adversos dels fàrmacs sobre el sistema nerviós central (SNC). Concretament, s'investiga si la correlació existent entre els biomarcadors EEG de la homeòstasi del son (activitat theta en vigília i SWA en el primer cicle de son NREM de nit) observada en condicions experimentals de privació de son, es reproduïx després d'intervencions farmacològiques que provoquin la mateixa situació experimental. Després de l'administració d'olanzapina al matí es registren canvis significatius en l'EEG de vigília i de son, però els resultats obtinguts no reproduïxen la relació descrita en situacions de privació de son, entre ambdós marcadors homeostàtics del son. Aquesta investigació posa en evidència la necessitat de realitzar nous estudis amb drogues de diferents tipus farmacològics i diferents efectes sobre l'espectre EEG del cicle vigília-son per poder determinar el rol exacte del biomarcadors EEG homeostàtics després de l'administració del fàrmac, donat les importants aportacions pràctiques que comporten.

En un tercer estudi s'investiga les possibles diferències entre sexes en els efectes sobre l'EEG de son, induïts pels antipsicòtics en voluntaris sans. Els resultats demostren

que l'administració d'olanzapina al matí en subjectes sans provoca diferències significatives entre sexes en els paràmetres de son. Les interaccions principals sexe-fàrmac es van obtenir en les variables PSG, sobretot en el son lent profund (SWS) amb un augment en les dones y disminució en els homes. Traduïts a la pràctica clínica, aquestes diferències farmacodinàmiques en els efectes de la olanzapina en el son entre homes i dones, podria ser un factor explicatiu de la millor resposta al tractament neurolèptic en les dones en comparació als homes en pacients esquizofrènics. Els resultats també suggereixen que les guies de prescripció de medicació antipsicòtica haurien de diferenciar entre ambdós sexes, especialment en relació als seus efectes sobre el son.

LLISTAT D'ABREVIACIONS

ACh:	Acetilcolina
BF:	Cervell basal anterior o prosencèfal
BPRS:	Brief Psychiatric Rating Scale
CVS:	Cicle vigília son
DA:	Dopamina
DRN:	Nucli del rafe dorsal
DMH:	Nucli dorsomedial de l'hipotàlem
EEG:	Electroencefalograma
EMG:	Electromiograma
EOG	Electrooculograma
GABA:	Àcid- δ aminobutíric
GLU:	Glutamat
HA:	Histamina
Hcrt/Ox :	Hipocretines/orexines
5-HT:	Serotonina
HPL:	Hipotàlem posterolateral
LC:	Locus coeruleus
LDT/PPT:	Nuclis laterodorsal i pedunculopontino tegmental
LH:	Hipotàlem lateral
MPO:	Àrea medial preòptica
NA:	Noradrenalina
NSQ:	Nucli supraquiasmàtic
PRF:	Formació reticular pontina
PSG:	Polisomnografia

PVH:	Nucli paraventricular hipotalàmic
Son REM:	<i>Rapid eyes movements of sleep</i> (son de moviments ràpids dels ulls)
SCN :	Nucli supraquiasmàtic
SE:	<i>Sleep Efficiency</i> (eficiència de son)
SL:	<i>Sleep Latency</i> (latència de son)
SNC:	Sistema Nerviós Central
Son NREM:	Son noREM (son de moviments no ràpids dels ulls)
SPZ:	Zona subparaventricular
PRF:	Formació reticular pontina
SRAA:	Sistema reticular activador ascendent
SWS:	<i>Slow wave sleep</i> (son d'ondes lentes)
TMN:	Nuclis tuberomamilaris
TST:	<i>Total sleep Time</i> (temps total de son)
VLPH:	Part ventrolateral de l'hipotàlem posterior
VLPO:	Nucli preòptic ventrolateral

ÍNDEX

AGRAÏMENTS	I
RESUM DE LA TESI DOCTORAL	III
LLISTAT D'ABREVIACIONS	VII
ÍNDEX	IX

PRÒLEG	1
INTRODUCCIÓ	3
1. ARQUITECTURA DEL SON	5
2. NEUROBIOLOGIA DEL CICLE VIGÍLIA-SON	7
2.1. Sistemes que controlen la vigília i els despertars	7
2.1.1. <i>Via indirecta o dorsal: reticulotalamocortical</i>	11
2.1.2. <i>Via directa: reticulocortical</i>	21
2.2. Sistemes que controlen el son NREM	22
2.3. Sistemes que controlen el son REM	25
3. REGULACIÓ DEL SON	29
3.1. Regulació homeostàtica	30
3.2. Regulació circadiana	32
4. SON I ESQUIZOFRÈNIA	35
4.1. Alteracions polisomnogràfiques en la esquizofrènia	36
4.2. Significat dels canvis EEG del son en l'esquizofrènia	38
4.2.1. <i>Correlació clínica</i>	38
4.2.2. <i>Correlació biològica</i>	40

5. SON I ANTIPSICÒTICS	41
5.1. Mecanisme d'acció dels antipsicòtics típics-atípics	41
5.1.1. Típics	44
5.1.2. Atípics	45
5.2. Efectes dels antipsicòtics en el son	46
5.2.1. Efectes dels antipsicòtics típics sobre l'EEG de son	47
5.2.2. Efectes dels antipsicòtics atípics sobre l'EEG de son	48
HIPÒTESIS	51
OBJECTIUS	55
MÈTODES	59
RESULTATS	67
Effects of olanzapine, risperidone and haloperidol on sleep after single oral morning dose in healthy volunteers. <i>Psychopharmacology</i> (2007) 190: 507-516	73
Waking and sleep EEG variables as human sleep homeostatic process biomarkers after drug administration. <i>Neuropsychobiology</i> (2011) 63: 252-260	85
Sex differences in sleep after a single oral morning dose of olanzapine in healthy volunteers. <i>Human Psychopharmacology</i> (2011) 26: 498-507	97
DISCUSSIÓ	113
CONCLUSIONS	123
REFERÈNCIES	127

PRÒLEG

Perquè dormim? Perquè somiem? Quines són les funcions del son? Quins són els mecanismes que regulen l'alternança del cicle vigília – son?

Des de sempre el son ha despertat un gran interès. Però si bé al llarg de la història ha engrescat l'atenció de pensadors, poetes, dramaturgs, filòsofs, pintors i religiosos (especialment potenciat des dels dies de Freud), comparativa i paradoxalment, aquesta atenció no ha estat igualment seguida per la comunitat mèdica. Per a aquests, el son era un estat inactiu del cervell, resultant del cansament i pèrdua de sensacions. No va ser fins al segle passat, coincidint amb la invenció de l'electroencefalografia (1930) que s'inicia la recerca moderna del son. Aquesta nova tecnologia va permetre estudiar el son en un estat pur, sense despertar a l'individu. Fou amb el coneixement de la estructura del son i sobretot al descobriment de la son REM i la seva associació amb els somnis (Aserinsky and Kleitman, 1953), que s'abandonen definitivament les teories passives del son i es considera aquest com un estat cerebral actiu, on es succeeixen nombrosos processos.

Tot i així, malgrat l'enorme avenç realitzat en les darreres dècades, la comunitat científica encara no té una resposta clara per respondre totes les qüestions plantejades.

El son és un fenomen biològic universal que es succeeix en la majoria dels éssers vius, amb petites variacions segons les espècies i subjecte a múltiples factors ecològics evolutius. La conservació d'energia, la recuperació dels teixits i el creixement o la reorganització de l'activitat cerebral amb la consolidació de la memòria, constitueixen, entre d'altres, les teories més estudiades per a explicar les funcions del son.

L'augment de l'estudi de les alteracions del son i el seu reconeixement en l'impacta que aquestes suposen en la salut, tan individual com pública, han accelerat la recerca en la

seva patogènia, així com en la investigació bàsica del son. A banda dels grans avenços realitzats a partir del desenvolupament d'estudis genètics, moleculars, neurofisiològics o de neuroimatge, la farmacologia s'ha constituït com a eina essencial en l'estudi del son. El coneixement de com els fàrmacs interactuen amb els mecanismes bàsics del son normal o patològic han estat contribucions vitals en l'avenç de la majoria de les àrees implicades en la recerca del son. Aquesta rellevància ha condicionat un creixement exponencial i una subespecialització de les investigacions en la farmacologia del son, abordant aspectes a nivell bàsic, experimental, de neurofarmacologia clínica o terapèutic, propiciant que es consolidin com a components dinàmics i imprescindibles en l'estudi de la medicina del son actual.

INTRODUCCIÓ

1. ARQUITECTURA DEL SON

L'encèfal humà oscil·la entre dos estats funcionals continus molt diferents: la vigília, estat on existeix consciència del medi ambient que ens envolta i dels estímuls generats internament (permet desenvolupar els comportaments necessaris per a la supervivència), i el son, que desconnecta l'escorça cerebral de les entrades sensorials, ens aïlla del món exterior i dona lloc a una activitat neuronal pròpia. Ambdues són el reflex dels canvis característics que es succeeixen en els diferents nivells d'activació del cervell, i que es poden mesurar amb l'electroencefalograma (EEG). Durant la vigília, l'EEG mostra freqüències altes de baixa amplitud que gradualment queden reemplaçades per senyals de freqüències més lentes i amplituds més grans, a mesura que el son s'inicia. La somnologia moderna defineix el son en base a uns criteris fisiològics i comportamentals (Taula 1). D'acord als criteris fisiològics el son es divideix en dos estats independents: períodes de son lenta o de no moviments ràpids dels ulls (son NREM) i períodes de son amb moviments ràpids dels ulls (son REM). Addicionalment, la son NREM és subdividida en tres fases (N1-N3) en base a criteris d'alentiment electroencefalogràfic, definits per la freqüència i l'amplitud del EEG¹. El son NREM i son REM alternen en cicles d'una durada aproximada de 90-110 minuts, pel que s'enregistren de 4 a 6 cicles de son en una nit normal. La distribució de les fases del son no és homogènia al llarg de la nit ja que en el primer terç domina la son lenta profunda o son d'ondes lentes (*slow wave sleep SWS*), sinònim de dir fase N3 o dels antics estadis III i IV de la son NREM) i en el darrer terç predomina la son REM. La representació gràfica dels diferents cicles de son enregistrats en una nit s'anomena hipnograma (Figura 1). Donat la similitud de l'activitat EEG de la son REM amb l'estat de vigília, la

¹ La classificació clàssica diferenciava 4 estadis de son NREM (Estadi 1, 2, 3, y 4). La nova classificació de la American Academia of Sleep Medicine revisada al 2007 diferencia 3 (N1, N2, N3). L'anàlisi de les dades obtingudes en aquesta tesi són prèvies al 2007 y per tant segueixen la nomenclatura anterior.

classificació dels diferents estadis de son inclouen també referències a l'activitat muscular, enregistrada per electromiografia (EMG) i a l'activitat dels moviments dels ulls enregistrats per electrooculografia (EOG).

	Vigília	Son NREM	Son REM
Comportamentals			
Postura	Erecta, assegut o estirat	Estirat	Estirat
Mobilitat	Normal	Lleugerament reduïda o absent; canvis posturals	Reduïda fins absent; sacsejades mioclòniques
Resposta a l'estimulació	Normal	Lleugera fins a moderadament reduïda	Moderadament reduïda fins absent
Nivell d'alerta	Alerta	Inconscient però reversible	Inconscient però reversible
Posició dels ulls	Obert	Tancats	Tancats
Moviment dels ulls	Moviments oculars oberts	Moviments oculars lents	Moviments oculars ràpids
Criteris fisiològics			
Electroencefalogràfics	Ondes alfa parieto occipitals (8-13Hz) mixtes amb ritmes beta fronto-centrals(<13Hz)	Ondes theta (4-7Hz) i delta (<4Hz), fussels de son , ondes vèrtex i complexes K	Theta o ondes en dents de serra, ritmes beta
Electromiografia	Normal	Reduïda	Marcadament reduïda
Electrooculograma	Moviments oculars oberts	Moviments oculars lents	Moviments oculars ràpids

Taula 1: Criteris fisiològics i comportamentals de la vigília i el son.

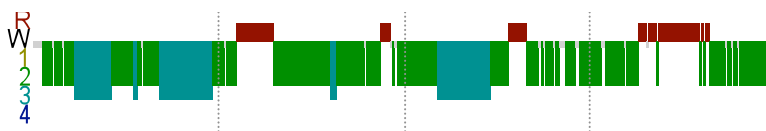


Figura 1: Hipnograma normal amb 4 cicles de son (R:son REM, W:vigília, 1:estadi 1, estadi 2, estadi 3, estadi 4).

En relació als criteris comportamentals, el son es caracteritza per una postura estereotipada de descans, absència o disminució dels moviments corporals voluntaris, mínima resposta a estímuls externs de baixa intensitat, i sobretot per la seva duració limitada i caràcter reversible, que permeten diferenciar-lo d'un estat anestèsic o del coma.

2. NEUROBIOLOGIA DEL CICLE VIGÍLIA-SON

Les transicions entre els estats de son i vigília són actives, és a dir, estan específicament regulades per complexes xarxes de grups de neurones situades en diferents àrees subcorticals (tronc de l'encèfal, diencèfal i prosencèfal basal) i no, com es va creure en un principi, que era el resultat de canvis passius induïts per l'esgotament neuronal i bloqueig sensorial (*hipòtesis passiva del son o de la desafertació*).

Durant els darrers anys, s'han succeït un gran número de treballs científiques que han permès establir una visió més completa i acurada dels mecanismes genètics, de la neurofisiologia cel·lular i xarxes subcorticals neuronals que intervenen en la neurobiologia del son. Aquesta explosió de coneixements ha estat possible, entre d'altres, gràcies als avenços en biologia molecular i biotecnologia, tècniques de microdiàlisi o immunohistoquímica i investigacions neurofarmacològiques.

2.1. Sistemes que controlen la vigília i els despertars

Des de principis del segle passat, a partir dels estudis de Von Economo en pacients amb encefalitis letàrgica es coneix que l'hipotàlem participa en la regulació dels estats de son i vigília (Von Economo, 1930). Aquest neuròleg vienès va observar que pacients que presentaven encefalitis a l'hipotàlem posterior presentaven

somnolència, mentre que en aquells que trobava l'afectació a l'hipotàlem anterior, patien insomni. Tal i com ell va primer hipotetitzar, avui sabem que l'hipotàlem posterior constitueix un centre promotor de la vigília, mentre que l'hipotàlem anterior afavoreix l'aparició del son.

Ell mateix també proposà que hi havia un sistema d'activador ascendent que s'originava al tronc cerebral responsable de mantenir l'encèfal despert, tot i que s'atribueix a Bremer (1935) el senyalar que la vigília concretament es deu a impulsos tòncics que ascendeixen pel tronc de l'encèfal cap a estructures mesencefàliques.

Al 1949, Moruzzi i Magoun gràcies als seus estudis en transeccions de l'encèfal en diferents plans ("*cerveau isolé*" / "*encephale isolé*"), demostren com a l'estimular la formació reticular del tronc cerebral, l'activitat sincronitzada electroencefalogràfica (EEG) de l'anestèsia i son canvia a una activitat desincronitzada de baix voltatge típica de la vigília. Descriuen així el sistema reticular activador ascendent (SRAA), com el sostrat neurofisiològic bàsic en l'activació cortical pròpia de la vigília, integrat per la formació reticular i l'hipotàlem posterior.

El sistema reticular activador ascendent (SRAA) està format per grups ben identificats de neurones excitadores de fenotips neuroquímics diversos que, a partir de la informació procedent d'un gran número de sistemes sensorials, somàtics i viscerals, promouen el despertar i la desincronització cortical pròpies de la vigília mitjançant un circuit de projeccions talàmiques i del prosencèfal basal (BF), que s'organitzen en dues vies principals (Figura 2):

- a) una ruta indirecta, talàmica o dorsal
- b) una ruta directa, hipotalàmica o ventral

via indirecta, talàmica o dorsal : desincronització EEG

via directa, hipotalàmica o ventral: comportament del despertar

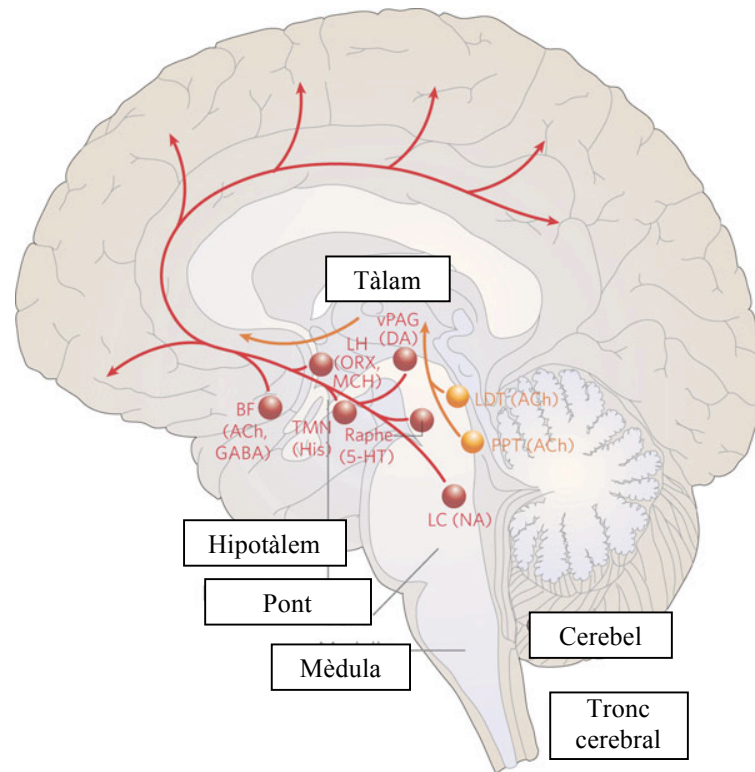


Figura 2: Modificat de Saper CB, Scammell TE, and Lu J. *Nature* 2005 ; 437:1257-1263.

La primera, és una via ascendent al tàlem (nuclis no específics), excitant les neurones de relleu crucials per a la transmissió de la informació cap al còrtex cerebral.

La majoria dels impulsos activadors d'aquesta via són procedents dels nuclis colinèrgics pedunculopontino i laterodorsal tegmental (PPT/LDT) situats a l'istme pontomesencefàlic, tot i que també provenen dels sistemes monoaminèrgics, de la formació reticular i del nucli parabraquial.

La segona branca del SRAA arriba al còrtex saltant el tàlem. Els senyals s'originen de cèl·lules monoaminèrgiques del tronc cerebral alt i hipotàlem més caudal

que inclouen neurones noradrenèrgiques del locus coeruleus (LC), neurones serotoninèrgiques del nucli dorsal i medial del rafe (DR), neurones dopaminèrgiques de la substància gris periacueductal (vPAG), neurones histaminèrgiques dels nuclis tuberomammilars (TMN) i neurones glutamaèrgiques reticulars. Aquesta via rep també entrades de les neurones peptidèrgiques de l'àrea de l'hipotàlem lateral, que contenen orexines/hipocretines (orx/hcrt) o d'hormona concentrat de melanina (MCH) i de les neurones GABAèrgiques, que contenen γ -aminobutyric acid (GABA) o colinèrgiques (Ach) del BF (Saper, 2005).

L'activació dorsal o de les projeccions talàmiques és necessària per l'activació i transmissió tàlem-cortical responsable de l'aparició de les freqüències electroencefalogràfiques (EEG) ràpides i de baixa amplitud característiques de la vigília, mentre que la ruta ventral a través de l'hipotàlem, activa al còrtex cerebral per a facilitar el processament dels senyals procedents del tàlem, per al manteniment de la vigília i regular l'expressió dels comportaments del despertar.

Tot i que cadascun d'aquests sistemes d'alerta són "per se" capaços de provocar el despertar, perquè es produeixi l'estat de vigília amb totes les seves característiques, és fonamental la seva actuació conjunta i sinèrgica sobre el tàlem i escorça cerebral.

Així, gràcies a les múltiples interconnexions existents, s'assegura que l'estat de vigília tindrà lloc, tot i la lesió d'alguns d'aquests sistemes. La distribució dels neurotransmissors en els distints nuclis talàmics i àrees corticals no és homogènia, sinó específica i particular per a cada un d'ells, de manera que la implicació en els fenòmens i processos que ocorren a la vigília tenen característiques diferencials per a cada neurotransmissor (Reinoso-Suárez, 1997):

2.1.1. Via indirecta o dorsal: reticulotalamocortical

Acetilcolina (Ach)

La implicació de les neurones colinèrgiques en la regulació de l'estat de vigília està àmpliament documentada en la literatura. La principal via la constitueix les neurones colinèrgiques del nucli PPT/LDT, que envien abundants projeccions excitadores al tàlem (sobretot els nuclis medial i intralàmic), i menys al HLA i al BF (Woolf, 1991), activant les projeccions tàlem corticals, originant els ritmes ràpids corticals característics. Una segona via s'origina de la substància innominada i nucli basal de Meynert del BF, que envien projeccions directament a les neurones corticals piramidals del còrtex. També hi ha una petita innervació colinèrgica del BF al tàlem, concretament al nucli reticular (nRet). Tant aquestes neurones colinèrgiques del PPT/LDT, com les neurones colinèrgiques del BF, presenten una freqüència de descàrrega alta durant la vigília i son REM i més baixa durant la son NREM (Steriade i McCarley, 1990). Conseqüentment, l'alliberació d'Ach al còrtex és màxima durant la vigília i son REM i mínima durant la son NREM (Marrosu i cols, 1995).

La importància de les neurones colinèrgiques en l'activació cortical i rol de l'Ach en la regulació de l'estat de vigília, està documentada per nombrosos estudis farmacològics i clínics. L'Ach al tàlem actua tant als receptors muscarínics com als nicotínics, pel que qualsevol agonista pot produir una desincronització cortical i un augment de la vigília (Gillin i cols, 1991). En humans, l'augment dels nivells sinàptics d'Ach produïts per inhibidors de la acetilcolinesterasa generen vigília i activació cortical, però precipiten el son REM si s'apliquen durant el son NREM, il·lustrant el paper bimodal de les neurones colinèrgiques en l'afavoriment la generació de vigília i son REM. Contràriament, els antagonistes dels receptors muscarínics o lesions del prosencèfal basal originen un alentiment de l'activitat EEG i alteració de la cognició (Pickworth i cols, 1990).

Durant la vigília, les neurones del BF son importants per al processament de la informació sensorial, la atenció i l'aprenentatge. Els pacients amb malaltia d'Alzheimer, on la pèrdua de les neurones colinèrgiques del BF constitueix la principal troballa patològica, característicament presenten una disminució d'activitat EEG d'alta freqüència que, juntament amb la simptomatologia clínica, senyalen la importància d'aquests processos en la cognició i memòria. Tanmateix "l'automedicació" amb la nicotina de les cigarretes constitueix una bona demostració de la mediació colinèrgica en l'augment de vigília i vigilància.

Noradrenalina (NA)

El locus Coeruleus (LC) constitueix una de les regions de neurones sintetitzadores de NA més ben caracteritzades. S'envien projeccions cap al còrtex i hipocamp, i àrees subcorticals com el tàlem i l'hipotàlem (Morrison i cols, 1986). Nombroses evidències experimentals indiquen la importància de l'activitat neuronal del LC en els processos del despertar. Els registres d'activitat única de les neurones NA del LC demostren aquest estat de dependència en el sentit que, com la majoria de les amines, disparen el seu màxim durant la vigília activa i disminueixen progressivament durant la vigília passiva i son NREM fins a fer-se pràcticament silencis durant el son REM (Aston i Bloom, 1981).

Les manipulacions que augmenten l'activitat neuronal del LC o la neurotransmissió noradrenèrgica produeixen un augment de les mesures EEG de vigília coincidents amb els nivells de NA alliberats mesurats per microanàlisi mentre que la inactivació del LC o l'administració d'antagonistes noradrenèrgics resulta en un augment de les mesures del EEG de sedació (Berridge i España, 2000). Durant la vigília aquestes neurones NA del LC incrementen la seva excitació davant els estímuls nous,

habituant-se a la repetició pel que es postula que tenen un paper regulatori important dels estats atencionals .

El receptor noradrenèrgic conté 2 receptors: α i β . Existeix una interacció important entre ambdós receptors en el manteniment del cicle vigília-son. Al tàlem, la NA indueix la despolarització de les cèl·lules de relleu tàlem corticals a partir dels receptors α_1 adrenèrgics (actuant sinèrgicament amb la ACh en aquest nivell) i de les cèl·lules GABAèrgiques del nucli reticular (efecte contrari a l'ACh). Al còrtex, tot i que presenta efectes excitadors de les cèl·lules piramidals a nivell d'ambdós receptors i amb cert efecte inhibitori a través del receptor β adrenèrgic, en general es considera que la NA té un efecte excitador postsinàptic a través del receptor α_1 adrenèrgic. Prazosin, un antagonista α_1 adrenèrgic facilita el son disminuint la latència del son (Kleinlogel, 1989). Les terminals nervioses noradrenèrgiques presenten també α_2 adrenoreceptors, l'activació dels quals provoca hiperpolarització d'aquestes, inhibint la descàrrega neuronal. La dexmedetomidina, un agonista α_2 freqüentment utilitzat com a sedant, inhibeix l'activitat del LC per aquesta via (Nelson i cols, 2003). El modafinil, utilitzat pel tractament de la hipersòmnia, facilita la neurotransmissió noradrenèrgica .

Histamina (HA)

La relació histamina-son s'inicia al 1930 amb el descobriment dels antihistamínics a França. Tot i que des de l'inici s'observa el poder de sedació d'aquests fàrmacs en el tractament de les al·lèrgies, aquest "efecte secundari" no és estudiat fins més recentment, quan es constata el paper de la histamina com a neurotransmissor i neuromodulador al cervell (Schwart i cols , 1991).

Les neurones histaminèrgiques estan situades gairebé exclusivament als nuclis tuberomamils (TMN) de la part ventrolateral de l'hipotàlem posterior (VLPH), tot i

que donen lloc a projeccions ascendents i descendents molt llargues i difuses que arriben al còrtex, tàlem i a la majoria de les regions cerebrals implicades en la regulació CVS com el preòptic i hipotàlem anterior, substància innominada, tegmentum pontine dorsal i rafe dorsal (Panula, 1989). L'activitat neuronal dels TMN és màxima durant la vigília, menor durant la son NREM i molt baixa a la son REM (Ko i cols, 2003).

Les accions centrals de la histamina estan mediades pels receptors postsinàptics H1 i H2 i els receptors H3. Aquests últims, els H3, presenten característiques d'auto i hetero-receptors, de manera que redueixen l'activitat enzimàtica disminuint la síntesi i alliberació d'histamina a través d'un mecanisme auto inhibitori (Schwartz, 1991). L'activació dels receptors H2, faciliten l'activitat cortical i de l'hipocamp, mentre que les projeccions tàlem corticals es despolaritzen per l'acció dels receptors H1 i H2. D'altra banda, les projeccions histaminèrgiques excitadores a les cèl·lules colinèrgiques del BF i LDT/PPT i noradrenèrgiques del LC són principalment a través dels receptors H1 (Lin, 1996). Aquestes projeccions afegixen una importància addicional de la HA en els nivells de despertar a través d'altres neurotransmissors activadors.

Les dades farmacològiques confirmen el rol alertitzant de la histamina: les drogues que incrementen el senyal HA augmenten l'activació cortical i la vigília (Mochizuki i cols, 1992) i al contrari, tan en estudis animals com en la pràctica clínica, els fàrmacs que alteren o bloquegen la transmissió histaminèrgica, com p.ex. la difenilamina (antihistaminèrgic del receptors H1), augmenten la son. De fet, els antagonistes centrals dels H1 són utilitzats universalment com a fàrmacs hipnòtics, tot i que per la seva ràpida habituació al sistema HA només són útils si s'administren ocasionalment. D'altra banda, els agonistes dels receptors H3, faciliten la son, probablement estimulants els receptors autoinhibitoris H3 de l'HA i altres neurones aminèrgiques (Monti, 1996).

Serotonina (5HT)

La serotonina ha estat un dels neurotransmissors més estudiats i complexes des de les primeres investigacions de la regulació del CVS. Si bé a l'inici fou considerat com a un neurotransmissor del son, actualment, gràcies a l'enregistrament de les neurones del rafe en animals dormint en estat natural, la serotonina es considera un neurotransmissor de la vigília, malgrat els mecanismes d'actuació no estan encara del tot establerts (Ursin, 2002; Monti, 2008).

Les neurones serotoninèrgiques es troben localitzades als nuclis del rafe medial i dorsal (DRN), les fibres de les quals innerven gran part del sistema nerviós central: tàlem, hipotàlem, striatum, hipocamp i còrtex frontal (Törk, 1990). Com la majoria de les altres amines, les neurones DRN estan actives durant la vigília, menys durant el son NREM i virtualment inactives durant el son REM, obtenint-se un patró similar en l'alliberació de serotonina mesurada per microdiàlisi (Portas i cols, 2000). La serotonina es sintetitza a les neurones serotoninèrgiques es a partir de l'aminoàcid precursor 1-triptòfan, que és transformat en 5-hydroxytryptophan (5HTP), per la triptofan hidroxilasa y posteriorment en 5-hydroxy-tryptaminea (5-HT: serotonina) per la 5HTP decarboxilasa.

La complexitat del sistema serotoninèrgic, participant en múltiples funcions i a través de molts subtipus de receptors, ha propiciat que durant molt temps existís la confusió que la serotonina promovia tant la vigília com el son.

Fent un breu recordatori històric, en la dècada dels 60, Koella i els seus col·laboradors realitzaren els primers estudis on es suggeria que la 5HT incrementava la son, mentre que la inhibició de la seva síntesi suprimia el son REM i son NREM (Koella i cols., 1968). En el laboratori, tant la injecció intratecal (ventricle lateral) com l'administració endovenosa de 5HT en gats anestesiats mostraven uns efectes bifàsics:

després d'un període inicial de despertar, es succeïa un període d'hipersincronia EEG prolongada (Koella i cols, 1968); i al contrari, lesions del DRN, o deplecions farmacològiques de 5HT en gats produïen un insomni de 3-5 dies. Paral·lelament, el grup de Jouvet, (1972) observaren que al realitzar lesions subtotals dels nuclis del rafe es produïa una reducció de la son paral·lela a la disminució de la serotonina cerebral. De rellevància també són els estudis experimentals post l'administració de parachlorophenylalanine (PCPA), un inhibidor de la triptòfan hidroxilasa, que demostraren una reducció de son lenta profunda NREM i activitat delta tan en gats com en rates (Koella i cols., 1968; Jouvet , 1972) així com una activitat ponto genicular (PGO) permanent. Aquest insomni però, es revertia amb l'administració de 5-hydroxytryptophan (5HTP), el precursor immediat de la serotonina, tot i que després de 30-60 minuts. A més a més, l'administració única de 5HTP també produïa una somnolència i hipersincronia EEG. Es lògic entendre, que a partir de les evidències d'aquests estudis, es formulés el rol hipnogen de la serotonina, especificant que el sistema ascendent serotoninèrgic era essencial per la son lenta profunda.

Al 1976 però, amb la publicació del primer estudi d'enregistrament únic de l'àrea del DRN (McGinty i Harper, 1976) on les neurones presentaven la seva màxima activitat durant la vigília, reduïda durant el son lent i gairebé silents durant el son REM, s'inverteix la hipòtesis hipnògena existent fins aleshores de la serotonina. Però tot i la confirmació posterior d'aquestes dades encara no queda una relació establerta clara de l'acció de la 5HT en l'encèfal en relació amb el despertar. Per exemple, és difícil d'explicar com la 5HT té un efecte inhibitori al talem així com un aparent efecte despolaritzador de les projeccions neuronals talemcorticals. Probablement aquestes discrepàncies es deuen en part la gran complexitat i multiplicitat dels subtipus de

receptors serotoninèrgics, la seva localització i per la manca de compostos altament específics per aquest receptors.

En termes generals, l'administració sistèmica d'agonistes dels receptors 5-HT_{1A}, (Dzoljic, 1992; Boutrel i cols., 2002), 5-HT_{1B}, 5-HT₂ i 5-HT₃ (Boutrel i cols., 2002) augmenta la vigília. Però l'administració d'agonistes del receptors 5-HT_{1A} presenta també efectes contradictoris, ja que a banda d'augmentar la vigília, disminueixen el son REM i incrementen el son d'ondes lentes (SWS). Els receptors 5-HT_{1A} es situen a nivell postsinàptic de moltes neurones i a les somatodentrites de les neurones del DRN funcionant com a auto receptors, pel que l'estimulació d'aquest receptors provoquen una disminució de l'activitat d'aquestes.

D'altre banda els estudis inicials amb antagonistes 5-HT₂ (ritanserina o ketanserina) disminuïen el son REM alhora que augmentaven el son NREM (Borbély, 1988) però estudis posteriors amb antagonistes més selectius han demostrat increments tan en el son NREM com en el son REM (Fish, 2005). Es suposa que les neurones serotoninèrgiques tenen un paper permissiu en la generació del son REM; han d'inhibir-se perquè es generi aquest estat. Els inhibidors de la recaptació de la serotonina provoquen una disminució del son REM i son NREM (Saletu i cols, 1991).

Resten moltes d'altres qüestions obertes encara envers el rol de la 5HT en relació amb el sistema son-vigília així com l'intercanvi d'informació que arriba i surt de les neurones del DRN. Es coneix l'existència de projeccions eferents colinèrgiques, glutamaèrgiques, noradrenèrgiques, dopaminèrgiques, histaminèrgiques i hipocretin-orexinèrgiques i dades que indiquen que la activitat serotoninèrgica modula altres estructures involucrades en el son i vigília (per exemple, la serotonina també pot modular l'activació cortical mitjançant la modulació de les cèl·lules colinèrgiques del BF). De fet, s'ha plantejat com a problema en l'estudi de la 5HT, que precisament degut

a aquestes connexions, els canvis de 5HT reportats in vitro, no es corresponen amb els estudis utilitzats in vivo (Monti, 2008).

Per totes les qüestions exposades s'entén que l'efecte sobre la vigília dels fàrmacs que afecten la neurotransmissió serotoninèrgica siguin complexos.

Dopamina

Contràriament als neurotransmissors descrits anteriorment, l'estudi del paper de la dopamina en la regulació del cicle son-vigília ha estat molt més limitat. Les neurones dopaminèrgiques es troben a la substància negra, àrea tegmental ventral, hipotàlem posterior i altres nuclis del tronc de l'encèfal. Globalment, aquestes cèl·lules innerven gran part del sistema nerviós central, més intensament al còrtex frontal, striatum, àrees límbiques i moltes parts del tàlem (Hillarp i cols., 1966). Tanmateix, tot i que aquestes neurones es troben ben situades per a regular l'estat de vigília, la importància del sistema dopaminèrgic en el control del despertar, ha estat desestimat durant molts anys, sobretot pel fet que l'activitat de les neurones dopaminèrgiques mostren molt pocs canvis entre els estats de vigília i son, hipotetitzant-ne inclús, que els efectes de la dopamina en el son normal són més la conseqüència de les interaccions resultants amb altres sistemes neurotransmissors (Pace-Schott i Hobson, 2002). Cada cop però, es disposen de més evidències fisiològiques i clíniques, que demostren la seva importància "per se" en la generació de la vigília. Els nivells de DA extracel·lulars són elevats durant els períodes de vigília (Feenstra i cols., 2000) i els agonistes D1, D2 i D3 augmenten la vigília i redueixen el son NREM i el son REM (Isaac i cols., 2003). Al contrari, els fàrmacs que bloquegen els receptors D1 i D2 (com els antipsicòtics típics), provoquen somnolència. També s'ha evidenciat que lesions dels grups de cèl·lules

dopaminèrgiques a l'àrea ventral periaqueductal grisa (PAG) redueixen significativament la vigília (Lu i cols., 2001).

La freqüència de descàrrega i la concentració de DA extracel·lular a l'escorça prefrontal augmenta davant estímuls relacionats amb la recompensa. Es suposa que aquestes neurones participen en l'augment de vigilància que acompanyen els estats emocionals de signe positiu. La DA, com la resta de les amines, és eliminada de l'espai presinàptic per transportadors d'amines. Drogues que inhibeixen la recaptació de dopamina, com la cocaïna o que incrementen la seva l'alliberació, com les amfetamines, augmenten l'estat de vigília. Aquesta activació presinàptica de la transmissió de la dopamina és la clau farmacològica per la que promouen els efectes de despertar de molts estimulants (Nishino i cols., 1998) tot i que, independentment del mecanisme d'acció d'aquests (tan els "anfetamina-like" estimulants com aquells que es pensa que tenen un mecanisme no dopaminèrgic -modafinil, cafeïna, nicotina...-, tots tenen en comú la propietat d'induir l'alliberació de DA (Boutrel i cols., 2004). Conseqüentment, els fàrmacs que augmenten els nivells sinàptics de DA són de primera línia en el tractament de les hipersòmnia. Els pacients amb malaltia de Parkinson presenten somnolència diürna, que, a banda d'altres trastorns del son que puguin coexistir, s'atribueix al dèficit de DA que presenten aquests malats.

Hipocretines/orexines

Les hipocretines/orexines (Hcrt/Ox) són uns neuropèptics hipotalàmics que, des de el seu descobriment han estat implicades en la regulació del cicle CVS, en la homeòstasi energètica, en funcions endocrines i cardiovasculars així com en el control de la alimentació, conductes de motivació, modulació del estrès, termoregulació i metabolisme entre d'altres. Actuen com a neuromoduladors dels sistemes

noradrenèrgic, colinèrgic, serotoninèrgic, histaminèrgic, dopaminèrgic i en la regulació de l'eix hipotàlem-hipofisari (De Lecea i cols, 1998).

Les hipocretines -1 i -2 (o orexines -A i -B), tot i estar exclusivament produïdes per un reduït grup de neurones localitzades en l'àrea perifornical de l'hipotàlem posterolateral (HPL), presenten un sistema de projeccions molt ampli i divergent que innerva múltiples estructures del SNC (tronc de l'encèfal, hipotàlem, tàlem, BF i escorça cerebral) així com a totes aquelles estructures del SRA involucrades en la regulació del CVS: LC, DRN, TMN, PPT, LDT i BF (Cid-Pellitero i cols, 2007) i que, a més a més, expressen receptors per Hcrt/Ox). Aquest patró de projeccions indica que les orexines podrien tenir un rol en la coordinació dels sistemes de despertar que seria especialment rellevant en les transicions dels estats de vigília (Kilduff i Peyron, 2000).

L'expressió del Fos i els nivells d'orexina en líquid cefaloraquídi (LCR), suggereixen que les neurones Hcrt/Ox estan majoritàriament actives durant la vigília, sobretot durant els períodes de més excitació o activitat locomotora i amb un pic de secreció al final de la vigília, per disminuir la seva activitat durant el son NREM, estant encara però en discussió, si, durant el son REM es mantenen actives, model "*REMon/wake on*" (Kilduff i Peyron, 2000) o resten silents "*REMoff/wake on*" (Lee, 2005). Diversos estudis amb injecció central d'orexines demostren un augment de la vigília, amb supressió del son NREM i son REM durant unes hores (Espanya, 2001). A més a més, la funció del sistema hipocretina presenta marcades variacions circadianes derivades de connexions directes i indirectes entre el nucli supraquiasmàtic (NSQ) i les neurones hipocretinèrgiques. L'activitat hipocretinèrgica pot augmentar per situacions de privació de son i vigília forçada, així com per l'activitat locomotora.

Paral·lelament, l'estudi de les Hcrt/Ox ha estat, des de l'inici, lligat a l'estudi de la malaltia de la narcolèpsia. En aquesta patologia, l'alteració del sistema Hcrt/Ox

provoca una desorganització general del CVS, que genera l'alteració de son que pateixen els pacients (De Lecea i cols, 1998). En aquests, s'ha detectat una disminució o absència de Hcrt1/OxA al LCR, una pèrdua de neurones Hcrt/Ox i gliosis de la zona perifornical del HPL, juntament amb el al·lel mutat per la HLA II, fet que sembla senyalar una causa autoimmune per aquesta degeneració cel·lular (Thannickal i cols, 2000). En estudis animals, són les mutacions dels pèptids o receptors els que reproduïxen simptomatologia narcolèptica. De moment, tot i la intensa investigació que s'està realitzant, encara no hi ha disponible al mercat compostos que interaccionin selectivament amb els receptors hipocretinèrgics, tot i que diferents línies de recerca actuals han confirmat l'eficàcia d'antagonistes hipocretinèrgics en l'augment del son, tan en animals com en humans, perfilant-se com a bons hipnòtics tant en la conciliació com en el manteniment del son.

2.1.2. Vía directa: reticulocortical

La vigília és heterogènia; com s'ha descrit en el punt anterior, les accions directes de cada neurotransmissor al còrtex semblen modifiquen determinats aspectes de l'estat de vigília (Reinoso-Suárez, 1997). Molt breument:

- La noradrenalina (NA). Les neurones noradrenèrgiques del LC són l'origen d'un sistema de projecció extensa a l'escorça cerebral, que formen part del sistema catecolaminèrgic relacionat amb l'atenció, l'aprenentatge, la memòria i el CVS. La NA té un efecte fàsic sobre les neurones de l'escorça cerebral, de manera que afavoreix la selecció de respostes apropiades en un context d'hiperestimulació: al despertar, en situacions d'alerta i en processos atencionals i d'aprenentatge.

- La serotonina (5-HT), produeix un efecte tònic en les neurones corticals. És important en la modulació d'aquestes durant els canvis de fase o en els diferents nivells de vigília.
- La dopamina (DA) es llibera uniformement i modula els circuits corticals i influeix en processos integratius. Augment de vigilància que acompanyen els estats emocionals de signe positiu.
- La histamina (HA) s' allibera de manera tònica i específica al còrtex en vigília i participa en el manteniment d'aquest estat davant noves situacions.

2.2. Sistemes que controlen el son NREM

Acabem de veure com la vigília es produeix d'una manera coordinada entre diferents grups cel·lulars, *però....què és el que desconnecta aquest sistema d'arousal o despertar i produeix el son?*

Tornant a les observacions inicials de Von Economo en els pacients amb encefalitis letàrgica, aquest va veure com a diferència de la majoria de pacients que presentaven hipersomnia, algun d'ells patien insomni sever i presentaven lesions del ganglis basals i adjacents a l'hipotàlem anterior. Dècades després es confirma que més concretament eren lesions de les neurones del nucli preòptic ventrolateral (VLPO).

Les neurones galanin i GABAèrgiques del VLPO són neurones actives durant el son, que envien senyals inhibidores a totes les estructures hipotalàmiques i del tronc cerebral que participen en els sistemes de vigília (Szymusiak i cols, 1998). Tanmateix, el VLPO s'organitza en dos subpoblacions de neurones: les primeres formen un grup més dens al nucli ("core") del VLPO (cvlpo) i innerven sobretot al TMN, relacionat amb les transicions arousal i son NREM, i un segon grup de neurones localitzades més difusament pel nucli (extended ventrolateral preòptic nucleus, eVLPO), que envien

projeccions sobretot al LC i DRN, més implicats en la inducció del son REM. En estudis experimentals en animals, les lesions cel·lulars específiques del VLPO produeixen insomni sever i fragmentació del son; més concretament, lesions del cVLPO i del eVLPO redueixen en un 50% el son NREM i REM respectivament (Lu, i cols 2000). A la pràctica clínica, les lesions d'aquestes àrees són molt rares, però les drogues sedants tipus bezodiazepínics i barbitúrics suposadament promouen la son augmentant el senyal GABA en aquests patrons descendents (Johnston, 2005).

La regió anterior “promotora de son” i la posterior “promotora de vigília” de l'hipotàlem s'inhibeixen mútuament (Saper i cols, 2001). El VLPO rep aferències inhibidores dels neuromoduladors activadors de la vigília: NA, 5HT, ACH. Per la HA no s'ha pogut evidenciar que inhibeixi directament les neurones del VLPO, ja que les neurones d'aquest no contenen receptors per la HA però sí l'inhibeix a través de projeccions GABAèrgiques i d'altres pèptids inhibidors co-localitzats a les neurones del TMN. Per tant, el VLPO pot ser inhibit per tots els sistemes de manteniment de vigília que ell mateix inhibeix durant el son (figura 3) .

Aquesta interacció recíproca entre el VLPO i els sistemes del despertar constitueix el model explicatiu de la regulació del cicle vigília-son que, per analogia amb els circuits electrònics del mateix nom, s'ha anomenat el circuit “flip-flop” (Gallopín, 2000; McGinty i Szymusiak, 2000). El funcionament d'aquest model, per la pròpia naturalesa de l'autoreforçament d'aquest interruptor (quan un costat està activat, redueix el seu propi feedback inhibitori), assegura estabilitat i facilitat ràpida de canvis d'estat de consciència, sense possibilitat d'estats intermitjos. El circuit flip-flop estaria format pel VLPO i els grups neuronals monoaminèrgics.

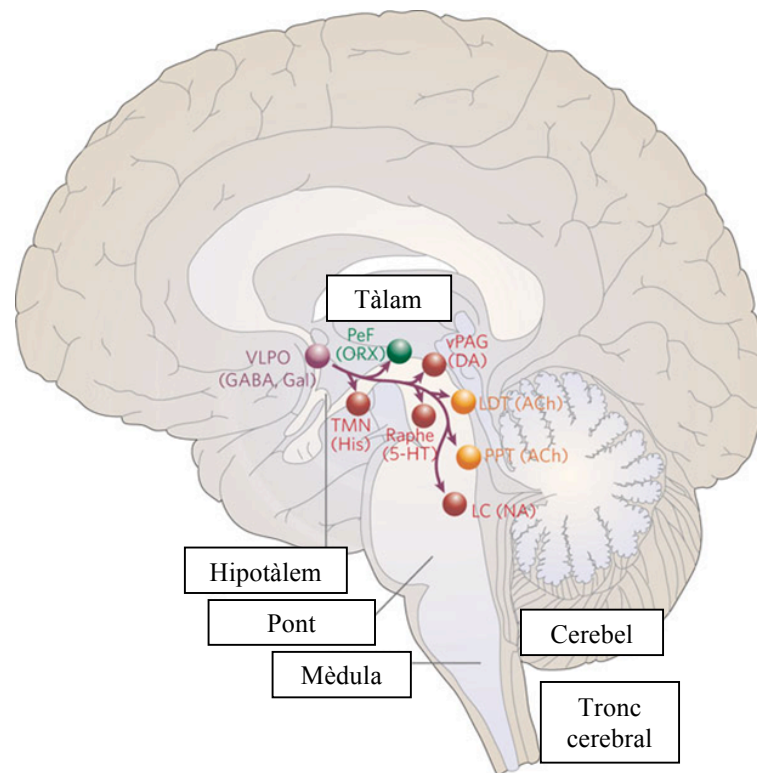


Figura 3 : *Vies promotores del son. Modificat de Saper CB, Scammell TE, and Lu. Nature 2005 ; 437:1257-1263.*

El sistema hipocretinèrgic, consolidaria l'estat de vigília estabilitzant el circuit en aquest sentit reforçant activament les neurones monoaminèrgiques implicades en el manteniment de la vigília (figura 4). Aquesta posició externa i asimètrica, “de dit sobre l'interruptor” és el que probablement impedeix intrusions desitjades en el son, al contrari del que succeeix en la narcolèpsia on el dèficit hipocretinèrgic desestabilitzaria la vigília provocant transicions ràpides a son REM (Saper i cols, 2001).

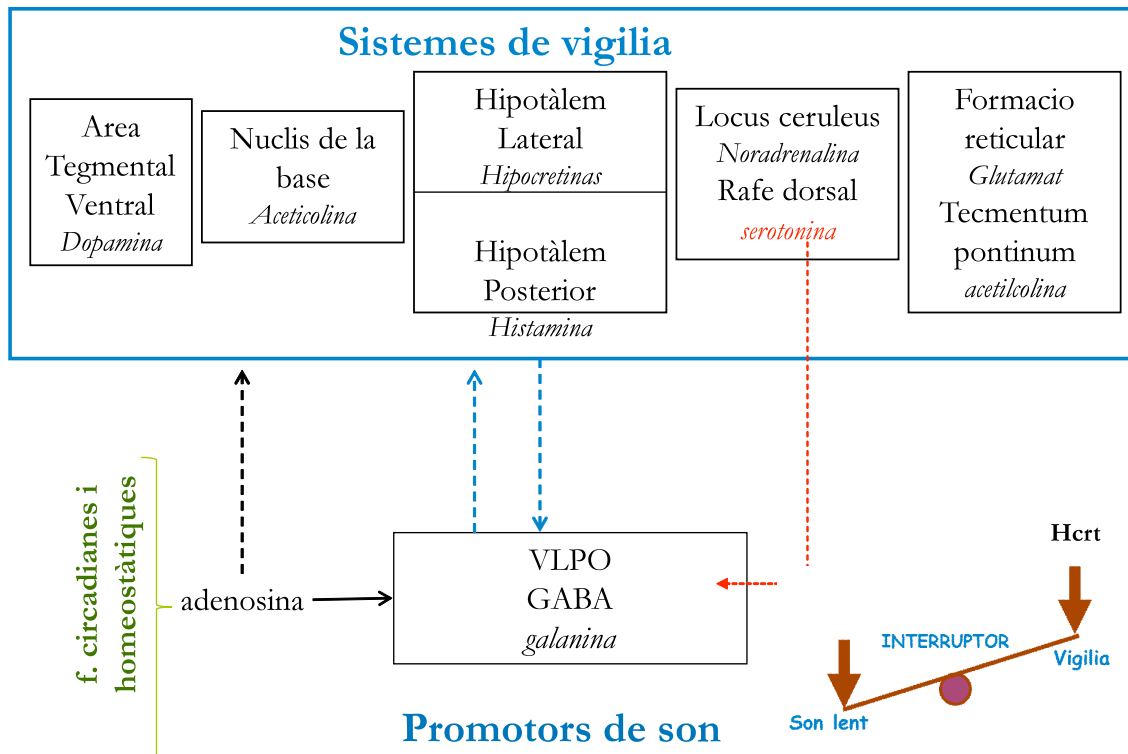


Figura 4: Vies de regulació dels estats de vigília- son: interacció recíproca.

2.3. Sistemes que controlen el son REM

Després d'un període de son NREM, la progressió natural de l'estat de vigília és a son REM. El son REM es genera al tronc cerebral per la interacció de neurones colinèrgiques i monoaminèrgiques, en el descrit model de "interacció recíproca" de la generació del son REM. Aquest model proposa que les neurones colinèrgiques "REM – on" (actives durant el son REM) i les neurones monoaminèrgiques (NA i 5HT) "REM off" (aturen la seva activitat durant el son REM) de la unió mesopontina, interaccionen recíprocament generant el ritme ultradià del son REM.

Durant la vigília, el sistema colinèrgic generador del son REM està tònicament inhibït per les neurones REM off monoaminèrgiques, però durant el son NREM, el to monoaminèrgic inhibidor del son disminueix, mentre que l'excitació colinèrgica creix

fins que el son REM es genera (Fuller, 2007). Amb el temps aquest model s'ha anat modificant, incorporant noves sinapsis intermèdies i neuromoduladors que intervien en ambdós sistemes. Entre d'altres, l'existència dels autoreceptors inhibidors colinèrgics dels nuclis colinèrgics mesopontins, les interaccions excitatòries colinèrgiques i no colinèrgiques (glutamaèrgiques) mesopontines que incrementen l'activitat de les neurones REM- on, així com la inhibició, via GABAèrgica, de les neurones NA del LC i 5HT del DRN que contribueixen a l'alliberació de les neurones REM on de la supressió aminèrgica. L'òxid nítric (NO), també produït per les neurones colinèrgiques mesopontines, es pensa que podria estar col·laborant en el manteniment del to colinèrgic del son REM a nivell del pont i del tàlem, així com modulant l'alliberació Ach al BF. Neuropeptids, hipocretines i dopamina també són motiu d'estudi, tot i que actualment, l'estudi del cicle NREM-REM s'extén, no només als neurotransmissors i els seus receptors, sinó profunditza en el paper del segons missatgers a nivell intracel·lular i la biologia molecular de la transcripció genètica (Pace-Schott i cols., 2002). Donat l'enorme complexitat de regulació d'aquest sistema, encara no s'ha pogut establir conclusions definitives envers els mecanismes de producció i manteniment del son REM (McCarley, 2007).

D'una manera simplificada però es podria resumir en que, com s'ha esmentat en els punt anterior, durant el son REM les cèl·lules monoaminèrgiques esdevenen quiescents i una de les influències inhibitòries que afecten aquestes neurones s'originen de les neurones del VLPO, que es tornen actives durant el son NREM. Aquest procés es continua més concretament amb l'activació de les cèl·lules de l'àrea extensa (eVLPO), responsables de l'increment de la inhibició dels nuclis monoaminèrgics del tron cerebral durant la son REM, a les que s'hi afegixen influències GABAèrgiques locals i de la formació reticular pontina (PRF). A partir de la disminució monoaminèrgica, les

neurones colinèrgiques pontines LDT/PPT, no actives durant la vigília, es desinhibeixen (figura 5).

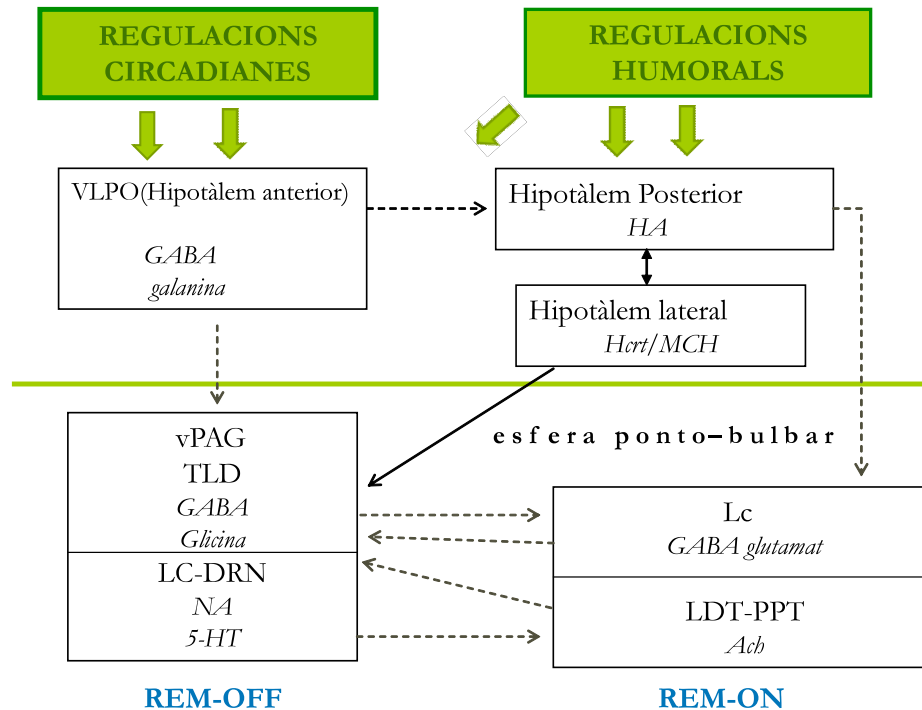


Figura 5: Vies de regulació del son REM.

La innervació colinèrgica descendent despolaritza els grups neuronals de la PRF responsables dels diferents fenòmens característics del son REM :

- L'activació EEG resulta de l'augment tònic de descàrregues de neurones colinèrgiques dels PPT/LDT i reticulars. L'augment d'Ach i possiblement del glutamat, despolaritza les neurones talàmiques activant les neurones corticals. El ritme theta característic de l'hipocamp depèn dels impulsos colinèrgics dels nuclis septals del BF i influències tòniques del tronc (Vertes i Kocis cols., 1997).
- Les ondes Ponto-geniculo-occipital (PGO), potencials fàscics enregistrats a nivell de pont que es transmeten al nucli geniculat talàmic lateral i al còrtex occipital,

són el resultat d'una desinhibició tònica i excitació fàscica colinèrgica del tegmentum lateral pontomesencefàlic. Els estudis mitjançant tècniques de registre extracel·lulars, s'observa una correlació directa entre l'augment d'activitat de les PGO i les neurones dels nuclis LDT/PPT. Tanmateix, lesions d'aquests nuclis o l'administració d'antagonistes colinèrgics aturen l'activitat talàmica PGO (Steriade, 1990)

- Els moviments oculars ràpid dels ulls (REMs), resulten també de l'excitació colinèrgica de les neurones de la formació reticular del pont, que estimulen als nuclis abducents, que són les estructures preoculomotores involucrades en la generació dels REMs en el son REM (Reinoso-Suárez, 2001).
- L'atonía muscular esdevé per una inhibició tònica postsinàptica de les motoneurones de l'asta anterior per les cèl·lules de la formació reticular pontomedular. La regió pontina crítica per a desencadenar l'atonía és el DPT i més concretament el locus coeruleus alfa (LC α) i perilocus coeruleus alfa (P α). D'aquestes neurones surten eferències colinèrgiques i glutamaèrgiques que arriben al nucli reticular medul·lar magnetocelular (RMc), qui allibera glicina cap a les motoneurones del PB i espinal durant el son REM, produint hiperpolarització i inhibició. Les cèl·lules del RMc també inhibeixen les neurones motores reduint els senyals activadors del LC i nucli vermell. Es a dir, que l'atonía resulta de d'inhibició directa i disminució de l'activació de les motoneurones. Són clàssics els estudis en animals on es demostra la importància d'aquests patrons per a l'atonía muscular, ja que lesions entre el pont dorsal i la medul·la medial provoquen un son REM sense atonía, amb una activitat motora hipotèticament reflex de l'activitat onírica cerebral durant el son REM (Morrison, 1988). Aquests comportaments estereotipats tenen representació

clínica, ja són molt semblants als que presenten els pacients amb una alteració de trastorns del son REM (RBD). En termes clínics, els fàrmacs que incrementen el senyal nicotínic o muscarínic augmenten el son REM mentre que els antagonistes colinèrgics o els compostos que incrementen la neurotransmissió monoaminèrgica, com els antidepressius, disminueixen el son REM .

3. REGULACIÓ DEL SON

Com s'arriba a establir un patró consolidat de son?

En la regulació del son estan implicats tres processos :

- 1) un procés homeostàtic (S), responsable de l'augment de la propensió al son durant la vigília i la seva dissipació durant el son.
- 2) un procés circadià (C), independent de la vigília i son anterior, que és responsable dels canvis rítmics de l'alta o de la baixa propensió al son.
- 3) un procés ultradià, que es succeeix durant l'episodi de son i que representa l'alternança entre els dos estats bàsics del son, son NREM i REM.

S'han desenvolupat diferents models de son representant aquests processos (Beersma, 1998). El model dels dos processos "*the two-process model*" descrit per Borbély al 1982 però, es constitueix com la base del model conceptual del "sleep timing" a partir del que s'han desenvolupat la resta.

Aquest model proposa que la propensió de son creix durant el dia i decreix durant el son assumint la interacció entre el procés homeostàtic S i el procés circadià C: el procés S augmenta exponencialment durant la vigília, disminuint durant el son. L'oscil·lador central (Procés C) genera les variacions circadianes que determinen els

nivells alt (H) i Baix (B) dels procés S, en condicions normals de períodes de 24 hores (figura 6).

D'acord amb aquest model, el son s'inicia quan ambdós processos senyalen una alta propensió al son, és a dir, el nivell de S arriba fins a H i acaba en arribar a B, moment del despertar. El principal atractiu d'aquesta aproximació, a banda de la seva base fisiològica i relativa simplicitat matemàtica, és que permet tan la simulació del son i la vigília, com dels estats de somnolència i alerta. Es per això que, a partir d'aquest primer model, s'han elaborat versions més sofisticades que permeten comprovar prediccions específiques d'aquests estats en situacions diferents (Achermann i Borbély, 2003).

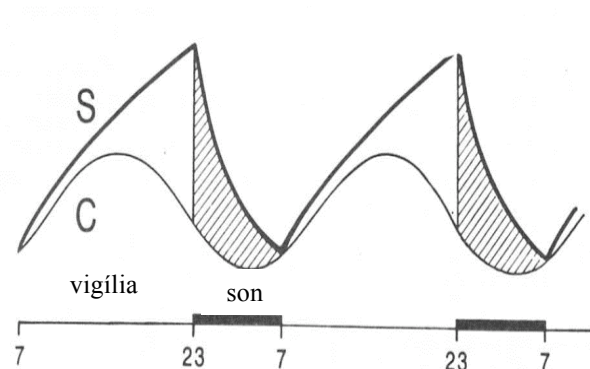


Figura 6: model dels dos processos de regulació de son. Modificat de Bobély, A. A two process model of sleep regulation. *Hum. Neurobiol.*, 1982, 1: 195–204.

3.1. Regulació homeostàtica

El procés homeostàtic (S) és un procés acumulatiu, on el nivell de la pressió o propensió al son al començament de l'episodi de son, depèn directament de la duració de la vigília precedent. La regulació homeostàtica del son implica que les manipulacions que augmenten (deprivació de son) o disminueixen (migdiades) les necessitats de son,

comporten un augment o decrement (respectivament) de la intensitat o duració de l'episodi de son.

La correlació electrofisiològica de la propensió de son (procés S) s'ha identificat com els canvis en l'activitat electroencefalogràfica d'ones lentes (SWA), definit com el poder espectral de les freqüències baixes en l'interval de 0.75-4.5 Hz. Aquest índex presenta un decrement global durant l'episodi de son, independentment de l'hora del dia. Estudis de privació de son i estudis amb protocols de migdiades al vespre han ratificat que l'increment o disminució (respectivament), del nivell de SWA en el primer episodi NREM és en funció de la duració de la vigília precedent (Borbély i cols., 1981; Werth i cols., 1996). Lesions en el nucli supraquiasmàtic (SCN), generador del procés C, no canvien aquest patró, fet que confirma que la SWA durant el son constitueix un veritable marcador del procés homeostàtic del son, tot i que els mecanismes i funcions de l'homeòstasi de les ondes lentes encara no estan clars. El decrement de SWA durant el son pot ser aproximat per una caiguda exponencial a través dels cicles i el seu increment durant la vigília per una funció exponencial (Borbély i cols, 1981).

També s'ha identificat un marcador de la homeòstasi del son durant la vigília. Les freqüències theta i alfa baixes (5.25–9 Hz) constitueixen el component EEG de vigília del procés homeostàtic del son: augmenta durant la vigília perllongada (Cajochen i cols., 1995) i es correlaciona significativament amb la fatiga i la somnolència (Torsvall i cols., 1987). En un estudi posterior, Finelli i cols (2000) monitoritzant l'EEG en vigília i en son d'individus sans en condicions experimentals després de 40 hores de privació de son, obtenen una correlació positiva entre l'augment de l'activitat theta durant la vigília i l'increment de l'activitat SWA en el primer episodi de son NREM, demostrant la relació entre ambdós marcadors homeostàtics.

La naturalesa d'aquest procés S és desconeguda. Els "somnògens" - substàncies químiques endògenes que s'acumulen durant el dia promovent el son i que disminueixen posteriorment en aquest -, com l'adenosina (A) o citocines entre d'altres, semblen ser l'equivalent neurobiològic del procés S (Porkka-Heiskanen i cols., 2002).

Durant una vigília perllongada, el cervell consumeix les reserves de glicogen, degradant l'ATP resultant en ADP, AMP i A. Les concentracions extracel·lulars d'adenosina i la densitat dels receptor agonistes A1 en el BF es dupliquen durant una privació de son per tornar a la normalitat un cop el son s'ha recuperat. Diversos autors coincideixen en que la injecció d'A o agonistes dels receptor de l'adenosina A1 al BF i agonistes dels receptor de l'adenosina A2 a prop del VLPO indueix son per dues vies: 1) per reducció de l'activitat de les neurones promotores de la vigília: l'A s'uneix als receptors A1 de les neurones colinèrgiques promotores del despertar cortical, disminuint llur activitat i 2) augmentant l'activitat de les neurones inductores del son: l'A, via receptors presinàptics A_{2A}, redueix els senyals aferents inhibitoris GABAèrgics, desinhibint el VLPO (Chamberlin i cols., 2003).

3.2. Regulació circadiana

El sistema de cronometratge circadià, proporciona una organització temporal per la majoria de les variables biològiques, fisiològiques i neurocomportamentals, incloent el CVS. Aquesta organització temporal constitueix una avantatge adaptativa fonamental, ja que permet predir la regulació de la funció homeostàtica (per exemple: abans del despertar, augmenta la temperatura corporal, el cortisol i el to simpàtic autonòmic, probablement anticipant-se a l'augment de les demandes energètiques imminents).

El nucli supraquiasmàtic (SCN) de l'hipotàlem anterior és el “rellotge intern” responsable del ritme circadià (al voltant d'un dia) del CVS. En condicions normals, el SCN es reinicia amb la llum durant el dia, i per la secreció de la melatonina durant la nit. Les neurones del NSQ disposen d'un mecanisme de retroalimentació genèticament dirigit basat en la transcripció-traslació de determinats gens i proteïnes, que produeixen un cicle aproximat de 24 hores. El senyal lluminós arriba a les cèl·lules glutamaèrgiques ganglionars retinianes, que són fotosensitives i expressen melanopsina, fins al SCN a través del feix retino (Berson i cols, 2002). La melanopsina és el fotopigment circadià de les RGCs responsable de l'activació del SCN com a sincronitzador del ritme circadià és a dir, en sincronia amb el cicle extern de llum i fosc.

Les projeccions eferents del NSQ innerven àrees implicades en l'alimentació, la temperatura, el son o altres cicles endocrins. El SCN actua com a rellotge biològic però sorprenentment, té molt poques eferències amb els sistemes reguladors del son, en un circuit molt complex, (Saper i cols., 2005). La majoria d'aquestes eferències van el nucli dorsomedial de l'hipotàlem (DMH), que integra la informació del NSQ, i a la zona subparaventricular (SPZ) que intervé en la regulació temperatura alimentació, patrons socials i ambientals. La SPZ es subdivideix en una zona ventral (vSPZ), amb neurones necessàries per l'organització dels cicles diaris de vigília-son, i una zona dorsal (dSPZ), imprescindible pels ritmes de control de la temperatura corporal amb projeccions a l'àrea medial preòptica (MPO)(Lu i col., 2001). Les eferències de la dSPZ estan integrades, juntament amb altres, al DMH. El SCN innerva molt lleument el VLPO, mentre que el DMH innerva molt intensament el VLPO i neurones orexinèrgiques. És a dir, que el DMH esdevé una estructura intermediària imprescindible per a la transmissió de la influència del SCN al sistema regulador del CVS, a través de projeccions inhibidores gabaèrgiques al VLPO pels cicles de son, i activadores glutamaèrgiques a

les neurones orexin i melanin ch, per als cicles de vigília i alimentació al LH (Chou i cols, 2003).

El DMH també és l'origen de projeccions cap a les neurones productores de corticotropina del nucli paraventricular (PVH) pel control del cicle corticosteroides. Durant el dia, les neurones del NSQ estan actives i a través de les projeccions gabaèrgiques, inhibeixen, entre d'altres, les neurones del PVH, involucrat en la producció de melatonina. Durant la nit, com s'atura la inhibició d'aquest nucli, es secreta melatonina(figura 7).

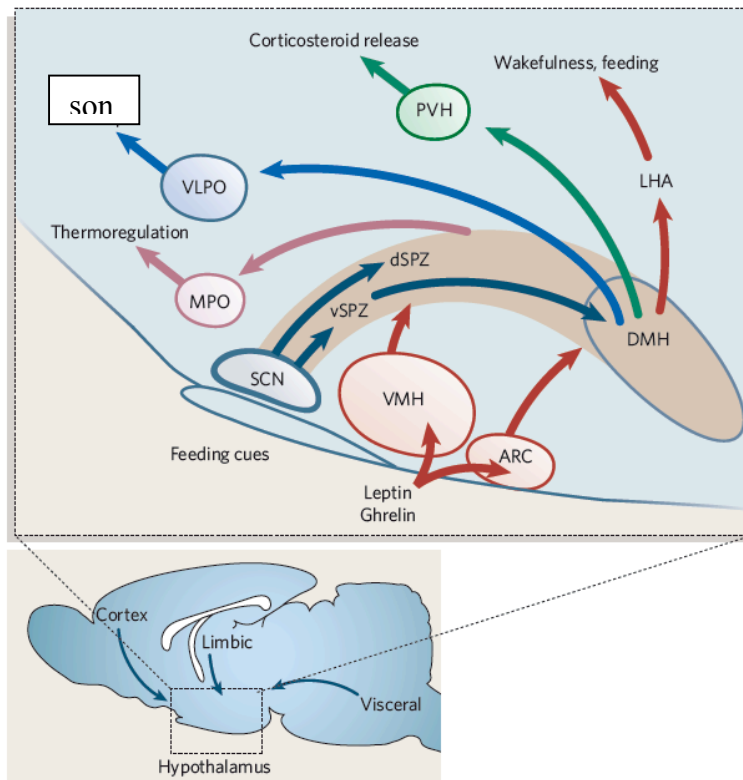


Figura 7: Sistemes integradors de ritmes circadià. *Modificat de Saper CB, Scammell TE, and Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. Nature 2005 ; 437:1257-1263.*

4. SON I ESQUIZOFRÈNIA

Les alteracions del son constitueixen una característica present en molts trastorns psiquiàtrics (Benca, 1992). Normalment, a mesura que avança la malaltia disminueix la quantitat i qualitat del son. Aquesta de privació de son resultant pot precipitar una psicosis. Igualment, les alteracions del son poden desencadenar o agreujar les condicions psiquiàtriques existents.

La esquizofrènia no és una excepció. Ja des del segle passat s'introdueix el pensament de que el son, els somnis i les psicosis estan relacionades -*"find out about dreams, and you will find about insanity"*-, (Hunhlings Jackson, 1958). Freud i Kraepelin, donat les estretes semblances entre alguns símptomes de l'esquizofrènia i els somnis, hipotetitzen que les psicosis són el resultat de la intrusió de la ment somiant dins la ment conscient (Freud, 1900; Kraepelin, 1906).

Es va haver d'esperar fins l'any al 1920, amb el desenvolupament del EEG i posterior de la polisomnografia (PSG), juntament amb el descobriment del son de moviments oculars ràpids (REM) i la seva associació amb els somnis (Aserinsky, 1953), quan es comença a estudiar aquesta relació de manera més rigorosa i objectiva.

Des d'aleshores, s'han realitzat moltes investigacions per intentar establir correlacions entre la neuropsicopatologia de la esquizofrènia i les alteracions polisomnogràfiques en aquests pacients, tot i que encara no s'hagi pogut arribar a un consens definitiu. Les discrepàncies entre les dades reportades responen als límits metodològics entre els estudis: des de les diferències en la definició de l'esquizofrènia, a la inclusió de pacients de diverses edats, fases de la malaltia i tipus o duració del tractament (Benson, 2008).

4.1. Alteracions polisomnogràfiques en la esquizofrènia

En el que sí existeix unanimitat però, és en senyalar que les alteracions del son en l'esquizofrènia són queixes molt freqüents durant tot el curs de la malaltia. Són presents ja en la fase prodròmica, abans del desenvolupament de la simptomatologia psicòtica, i resten involucrades en la patofisiologia de diferents aspectes clínics de la malaltia.

Fins al 30-80% dels pacients esquizofrènics presenten un son alterat, on les dificultats en l'inici i manteniment del son representen les queixes subjectives més característiques. Aquesta simptomatologia d'insomni ha estat verificada per registres polisomnogràfics (PSG) on s'evidencia una latència del son (*Sleep Latency, SL*) allargada amb una continuïtat del son fragmentada, representada per una disminució en la eficiència del son (*Sleep Efficiency, SE*) i del temps total de son (*Total Sleep Time, TST*) i per un augment del temps de despertar després de l'inici del son (*wake after sleep onset, WASO*) (Chouinard, 2004).

Contràriament als anteriors, els canvis polisomnogràfics envers l'arquitectura del son no són tant consistents. En la literatura en general, s'accepta que el son NREM, i més particularment el son d'ondes lentes (*Slow Wave Sleep, SWS*) estan disminuïts en l'esquizofrènia (Keshavan, 1990). Aquestes reduccions han estat descrites tant en pacients en el primer brot psicòtic (Poulin, 2003), en pacients sense medicar (Yang, 2006), en pacients medicats (Goder, 2006) i en pacients en remissió (Kupfer, 1970). En familiars no psicòtics de primer grau de malalts d'esquizofrènia, també s'han trobat reduccions en el SWS, suggerint que aquest podria ser un tret associat amb el risc de patir esquizofrènia (Keshavan, 2004). Les disminucions de SWS però, no són presents a tots els articles publicats (Tandon, 1992; Lauer, 1997; Chouinard, 2004).

Altres estudis han demostrat que la utilització de mesures més refinades, com l'anàlisi espectral, són més sensibles que l'anàlisi visual alhora de valorar els efectes sobre el SWS. Aquests estudis confirmen una disminució de l'activitat delta en pacients esquizofrènics respecte als individus sans, tot i que a l'anàlisi visual presentin el mateix SWS.

Només uns pocs estudis han analitzat els canvis en l'arquitectura del son en l'esquizofrènia mitjançant tècniques d'anàlisi espectral. Aquests confirmen una disminució de l'activitat d'ones lentes (SWA) durant el SWS (Keshavan, 1998; Goder, 2006) i un augment de les freqüències EEG altes beta (20-35Hz) i gamma (35Hz-45Hz) en pacients esquizofrènics no tractats respecte als individus controls en tots els estats del son. Respecte als fusos del son, es senyalen canvis contradictoris: uns amb disminucions tant en el número com en l'amplitud dels fustos de son NREM (12-15Hz) (Ferrarelli, 2007), altres amb augments i d'altres sense reportar diferències (Poulin, 2003).

D'altre banda, les primeres especulacions respecte al potencial desregulador del son REM en l'esquizofrènia no han estat confirmades. Malgrat el primer metaanàlisi demostrà una latència de son REM disminuïda en els pacients esquizofrènics (Benca, 1992), en la majoria de les investigacions posteriors no es troben diferències sistemàtiques en el son REM entre pacients i sans (Chouinard, 2004), tot i que alguns autors mantenen que, tot i que no significativa, els malalts esquizofrènics sí presenten una latència mitja de son REM més curta (Keshavan 1998, Lauer 1997). La densitat REM (número de moviments ràpids dels ulls), també descrita clàssicament com augmentada en la esquizofrènia (Yang and Winkelman, 2006), no s'ha pogut confirmar en la majoria dels estudis.

4.2. Significat dels canvis eeg del son en l'esquizofrènia

4.2.1. Correlació Clínica

Durant les darreres dècades, la recerca del son en l'esquizofrènia ha estat focalitzada en la relació entre els paràmetres de son EEG i la simptomatologia clínica subjacent. Aquesta associació pot aportar informació molt important en la patofisiologia de l'esquizofrènia, ja que algunes mesures de son representen un pont entre l'aspecte clínic i biològic de la malaltia (Yang and Winkelman, 2006). Però tal i com succeeix en els punts anteriors, també existeix poc consensos entre la relació de les alteracions del son i els símptomes clínics de l'esquizofrènia.

Alguns estudis han profunditzat sobre la avaluació global de la severitat de la simptomatologia i documenten una relació positiva entre la severitat d'aquesta i l'augment de vigília, la reducció de son, la disminució de son SWS i la latència REM (Tandon 1992). Però la majoria de les investigacions, s'han focalitzat en la dimensió dels símptomes positius i negatius obtinguts a partir de les puntuacions de les escales BPRS (*Brief Psiquiàtric Ràting Scale*) o PANSS (*Positive and Negative Symptom Scale*). Els símptomes positius, com les al·lucinacions o les desil·lusions, s'han relacionat amb alteracions de la continuïtat del son i la son REM, mentre que els dèficits del SWS s'associen amb els símptomes negatius. Més concretament, els símptomes positius es correlacionen amb un augment de la latència de son (Zarcone, 1997), una pobre eficiència de son (Neylan 1992), una latència de son REM escurçada (Taylor, 1991; Tandon, 1992; Lauer, 1997), un augment de la densitat REM i amb un increment de l'activitat EEG d'altres freqüències (Tekell, 2005). Alguns estudis evidencien una hiperactivitat del sistema dopaminèrgic com el mecanisme subjacent d'aquestes alteracions del son.

Els símptomes negatius s'han lligat a deficiències de SWS i activitat delta (Kajimura, 1996; Keshavan, 2004). Més recentment, s'ha confirmat que la disminució de SWS també juga un paper crític en l'alteració del funcionament cognitiu dels pacients esquizofrènics amb (Orzack, 1977) o sense tractament (Yang and Winkelman, 2006). En comparació amb el subjectes sans, les alteracions del son en pacients esquizofrènics provoquen una major repercussió en les tasques de rendiment neuropsicologies: memòria prosadora i visuespial, temps de reacció en tasques selectives de reacció o d'altres d'atenció i flexibilitat cognitiva. Diversos autors han proposat que el dèficit de SWS en l'esquizofrènia reflexa anomalies del desenvolupament neuronal i que l'alteració del funcionament del lòbul frontal pot estar implicat directament en la disminució de SWS (Manoach and Stickgold, 2009) .

A banda de la diferenciació entre símptomes positius i negatius i les alteracions neurocognitives, s'han revisat altres significats clínics de les alteracions EEG del son en l'esquizofrènia (Cohrs, 2008).

Tot i que en moltes existeixen resultats dispars, es poden resumir en:

- Una pobre qualitat de son es correlaciona inversament amb la qualitat de vida.
- El percentatge de son REM (REM %) es correlaciona positivament amb la severitat de la malaltia, mentre que la latència, la densitat i la duració del son REM presenten una relació negativa amb les puntuacions totals de les escales BPRS i PANSS.
- Una duració total i activitat de son REM augmentades durant la nit, s'han documentat en pacients esquizofrènic amb comportament suïcides respecte a no suïcides.

- Respecte al pronòstic, els dèficits basals de percentatge de son delta prediuen un pobre resultat en l'evolució de la malaltia i també s'ha documentat que serveixen com a predictors de descompensació psicòtica en pacients en remissió.

4.2.2. Correlació Biològica

També s'han descrit associacions significatives entre les alteracions del son i determinades estructures cerebrals en pacients amb esquizofrènia.

Els primers estudis reportaven dèficits de SWS associats amb augments del volum del sistema ventricular (Benson, 1996), però aquests resultats no s'han pogut replicar en estudis amb pacients naïves (Lauer, 1997). Un increment de les latències de son i del número de despertars s'han relacionat amb l'augment del tamany de la proporció del volum del sistema ventricular en relació amb el volum total cerebral (*ventricular brain ratio*, VBR) mentre que Keshavan i cols. (1991) correlacionen negativament l'amplada del tercer ventricle amb l'eficiència de son i positivament amb la latència de son REM (Benson, 2008).

Finalment, són pocs els estudis realitzats a dia d'avui per investigar les alteracions del son i les associacions neuroquímiques en la esquizofrènia. Sorprenentment no existeix cap que analitzi aquesta relació amb la dopamina. Amb altres neurotransmissors, està descrit una associació entre l'escurçament de les latències de son REM i una hipersensibilitat colinèrgica (Riemann, 1994), una disfunció serotoninèrgica amb dèficits de SWS (Benson, 1996), un increment dels nivells de norepinephrina en l'insomni associat a la recaiguda psicòtica (Van Kammen, 1988) i una correlació positiva entre la latència de son i els nivells d'hipocretines en el LCR (Nishino, 2002).

5. SON I ANTIPSICÒTICS

5.1. Mecanisme d'acció dels antipsicòtics típics-atípics

Al 1950 es descobrí, de manera casual, el primer agent antipsicòtic (la chlorpromazina). Aquest primer compost efectiu en el tractament de la simptomatologia psicòtica, revolucionà l'abordament terapèutic de les alteracions psicòtiques. Des d'aleshores, els antipsicòtics o neurolèptics, s'han constituït com els fàrmacs que mostren la major eficàcia en el tractament de les psicosis de tipus esquizofrènic, així com algunes psicosis orgàniques i tòxiques.

Els antipsicòtics redueixen el número de malalts hospitalitzats, milloren substancialment alguns dels símptomes de l'esquizofrènia, faciliten el desenvolupament dels programes de rehabilitació individual i comunitària, permeten al malalt pensar amb més claredat i relacionar-se millor amb el seu mitjà i redueixen el número de caigudes. Però també tenen limitacions evidents: segueixen existint recaigudes, malgrat mantenir el tractament, hi ha símptomes que no responen i aspectes de la conducta que no milloren i provoquen reaccions adverses que compliquen o pertorben la vida del malalt (Flórez, 2003).

En la patogènia de la esquizofrènia s'accepta l'existència de factors genètics que la predisposen així com de factors ambientals que faciliten el seu desenvolupament. Malgrat les bases biològiques de la malaltia encara estan per determinar, es postula la disfunció dels receptors dopaminèrgics com clau de la patofisiologia de la esquizofrènia.

La dopamina s'ha vist implicada en les hipòtesis dels diferents aspectes de l'esquizofrènia: símptomes positius, negatius, cognitius, agressius-hostils i símptomes depressius/ansiosos..., fet que han donat lloc a la hipòtesi dopaminèrgica de les psicosis, o més concretament la *hipòtesi dopamin-mesolímbica dels símptomes positius*

psicòtics. Aquesta hipòtesis postula que és la associació entre la hiperactivitat dopaminèrgica específica d'aquesta via la responsable dels símptomes positius dels diferents trastorns psicòtics. El fet que malalties o drogues que augmenten l'alliberació de dopamina (fàrmacs dopaminèrgics) indueixen o agreugen reaccions psicòtiques i que l'acció farmacològica de tots els neuroleptics amb propietat antipsicòtiques és el bloqueig dels receptors (D2) de la dopamina recolzen aquesta teoria. A més a més, la neuroanatomia de les vies dopaminèrgiques al cervell pot explicar tan l'eficàcia antipsicòtica com dels efectes indesitjables dels neuroleptics (Stahl, 2000):

- 1) Via nigroestriada: s'origina de les neurones de la substància negra del tronc cerebral fins als ganglis basals. Forma part del sistema nerviós extrapiramidal, i per tant, del control dels moviments. La hiperactivitat d'aquesta via o un augment de dopamina provoca moviments hiperkinètics, tipus corees, tics i discinèsies. Al contrari, deficiències de dopamina en aquesta via originen parkinsonisme, amb tremolor, rigidesa akinèsia o bradicinèsia. Per tant, el bloqueig dels receptors dopaminèrgics en aquesta via produirà reaccions extrapiramidals (EPS) agudes tipus parkinsonisme o discinèsies i acatícia per coexistència de bloqueig DA postsinàptic o EPS cròniques, les anomenades discinèsies tardies. Aquest síndrome d'hipercinèsies de moviments facials, llengua i cos, succeeix al voltant d'un 5% dels pacients en tractament crònic amb els antipsicòtics convencionals. Es pressuposa que és ocasionat per una hipersensibilitat als receptors DA postsinàptics en aquest l'eix nigroestriat.
- 2) Via mesolímbica: projeccions que van des de l'àrea tegmental ventral fins al nucli accumbens. Aquest forma part del sistema límbic del cervell involucrat entre d'altres en el plaer, recompensa i comportaments de reforçament i eufòria de les drogues d'abús. Com s'ha esmentat anteriorment, la hiperactivitat de les

neurones dopaminèrgiques d'aquestes vies teòricament medien els símptomes positius de la psicosis, com els deliris i al·lucinacions.

- 3) Via mesocortical: També s'origina a l'àrea tegmental ventral, però projecta fins a zones anteriors del còrtex, responsables del funcionament ejecutiu, pensament i de la memòria. Sembla ser que un dèficit de DA en aquesta via està associada amb els símptomes negatius i cognitius de la esquizofrènia (indiferència, apatia, anhedònia...). Per tant, el bloqueig dopaminèrgic secundari al bloqueig dels antipsicòtics empitjorarà encara més aquest dèficit i aquests símptomes.
- 4) Via tuberoinfundibular: s'estén des de l'hipotàlem fins a la hipòfisi anterior. La dopamina inhibeix la secreció de prolactina, i el seu bloqueig, augmenta la concentració sèrica d'aquesta, produint amenorrea, galactorrea, ginecomàstia o infertilitat.

Hi ha 5 classes de receptors dopaminèrgics: els *D1 like receptors* (inclouen els receptors D1 i D5) i els *D2 like receptors* (D2, D3, D4). Els D1 i D2 es troben àmpliament per tot el cervell i vies dopaminèrgiques. Els D2, D3 i D4 també, però en menor concentració. D3 i D4 es troben concentrats en regions límbiques i els D5 a tàlem, hipotàlem i hipocamp.

Els antipsicòtics bloquegen els receptors cerebrals D2, mentre que es desconeix la significació clínica del bloqueig de la dopamina a nivell de la resta de receptors. Estudis amb PET demostren una clara relació entre la resposta clínica i el grau de bloqueig D2 (Seeman, 1995). L'acció antipsicòtica passa quan el grau d'ocupació és del 60-70% , mentre que a partir del 80 % sembla ser que augmenta el risc de EPS sense incrementar la eficàcia. Els antipsicòtics típics ocupen el 70-90% dels receptors D2, mentre que els atípics només el 30-60% a dosis estàndards. Olanzapina i risperidona, a dosis més altes (>20mg) incrementen el grau d'afinitat pels receptors D2 perdent les

seves característiques d'atípia. Els antipsicòtics constitueixen un grup de medicaments de naturalesa química molt heterogènia, que actuen fonamentalment pel bloqueig dels receptors dopaminèrgics cerebrals D2, tot i que tots ells tenen activitat sobre receptors d'altres neurotransmissors.

5.1.1. Típics

Els antipsicòtics típics inclouen "*tots els agents abans de la clozapina*". Es classifiquen segons la seva estructura química -fenotiazines (clorpromacina, tioridacina, flufenacina), butirofenones (haloperidol) i tioxantens (clorprotixeno) - i/o la potencia amb la que interaccionen amb els receptors D2 de la DA - antipsicòtics de baixa potència (clorpromazina, levopromacian, prometazina, mesoridazina, i sulpiride) i d'alta potència (haloperidol, tiotixene, flufenazina, flupentixol i pimozide). Si bé la divisió química tradicional no té repercussió en la pràctica clínica habitual, sí aquesta darrera, ja que els antipsicòtics de baixa potencia acostumen a tenir una acció sedant elevada amb baix potencial de EPS mentre que els d'alta potència són poc sedants però presenten alta incidència de EPS.

A banda del bloqueig comú dels receptors D2 de la DA, els neurolèptics típics difereixen entre sí per la capacitat també de bloquejar els receptors colinèrgics muscarínics (M_1), els adrenèrgics alfa 1 (α_1) i els receptors histaminèrgics (H_1), condicionant les diferències en el perfil de les reaccions adverses o la tolerabilitat entre els antipsicòtics típics, tot i que l'eficàcia terapèutica és pràcticament la mateixa entre tots.

El bloqueig colinèrgic provoca principalment sequedat de boca, visió borrosa, estrenyiment o somnolència, mentre que el bloqueig adrenèrgic provoca reaccions

cardiovasculars tipus hipotensió ortostàtica i mareig i el bloqueig histaminèrgic comporta un augment de pes i de somnolència.

Els antipsicòtics típics demostren màxima eficàcia en els símptomes positius, però una mala resposta als símptomes negatius, juntament amb els efectes secundaris extrapiramidals, obliguen en la pràctica clínica habitual a recórrer als antipsicòtics atípics.

5.1.2. Atípics

Els antipsicòtics atípics es desenvolupen en resposta als problemes provocats pels neuroleptics típics. Des d'un punt de vista clínic, els neuroleptics atípics (d'aquí el nom) presenten una baixa o nul·la propensió a ocasionar símptomes extrapiramidals o discinèsia tardana i no augmenten els nivells de prolactina. Presenten una major eficàcia antipsicòtica en la millora de pacients resistents al tractament convencional i en la reducció dels símptomes negatius i cognitius de la esquizofrènia. Com a efectes adversos s'inclouen augment de pes, sedació o agranulocitosis (Ganguli i cols., 1987).

Des d'un punt de vista farmacològic els antipsicòtics atípics, a més de l'antagonisme D₂ dopaminèrgic, també bloquegen els receptors serotoninèrgics 5HT₂. De fet, és aquest antagonisme dual el responsable dels menors efectes secundaris d'aquest grup: la serotonina inhibeix l'alliberació de dopamina. Per tant, el bloqueig dels receptors 5HT_{2A} de la neurona dopaminèrgica, desinhibeix el bloqueig dels receptors D₂, incrementant la dopamina disponible per poder competir amb els antagonistes del receptors D₂, tant a nivell de l'estriat- explica els menors efectes EPS- com en la via tuberoinfundibular - disminució de la hiperprolactenemia, o compensant el dèficit de DA a nivell mesocortical que explicaria la millora dels símptomes negatius i cognitius.

Sortosament, sembla ser que en la via mesolímbica, l'antagonisme serotoninèrgic no és prou robust per revertir els efectes del bloqueig D2 i mitigar els efectes dels antipsicòtics atípics respecte als símptomes positius.

Cada antipsicòtic atípic presenta diferents propietats farmacològiques interaccionant amb receptors d'altres neurotransmissors a més de les accions SDA (Stahl, 2000): dopaminèrgics (D_1 , D_3 , D_4), serotoninèrgics ($5-HT_{1A}$, $5-HT_{1D}$, $5-HT_{2C}$, $5-HT_3$, $5-HT_6$ i $5-HT_7$), noradrenèrgics (α_1 - α_2), muscarínic colinèrgics (M_1) i histaminèrgics (H_1) entre d'altres. Segons la seva estructura química, els antipsicòtics atípics es classifiquen en dibenzodiacepines (clozapina, olanzapine), dibenzotiacepines (quetiapina, metiapina), benzisoxazoles (risperidona) i benzamidas (sulpirida, tiaprida, racloprida).

5.2. Efectes dels antipsicòtics en el son

Malgrat la freqüència de les alteracions del son en la esquizofrènia i la seva relació amb diferents aspectes clínics de la malaltia, són limitats els estudis adreçats expressament per a l'estudi dels efectes dels antipsicòtics sobre el son en aquests pacients i més pocs encara els estudis que han investigat adequadament aquesta influència dels antipsicòtics típics i atípics en el son.

Com ja s'ha esmentat abans, si els estudis amb pacients esquizofrènics ja són difícils d'interpretar, els dissenys dels estudis per avaluar els efectes polisomnogràfics dels antipsicòtics tenen nombroses dificultats addicionals.

La majoria no tenen grup control amb placebo, presenten diversitat en les dosis administrades, insuficients períodes de blankeig, utilitzen altres drogues concomitants que poden modificar el son, o simplement s'avaluen els efectes globalment malgrat s'estudiïn diferents antipsicòtics alhora.

Un procediment per solucionar aquests problemes és l'avaluació del efectes dels fàrmacs sobre el son en subjectes sans. Aquests estudis proporcionen informacions molt importants en el coneixement de les interaccions entre la esquizofrènia, la son i els antipsicòtics, ja que les conclusions envers l'efecte farmacològic del compost poden ser descrites en absència de factors de confusió com la condició patològica, o els efectes adversos (Warrington, 1997).

Globalment però, hi ha consens en acceptar la millora que exerceixen tots els neurolèptics sobre el son en pacients esquizofrènics. Milloren la qualitat del son augmentant el temps total de son (TST) i la eficiència del son (SE). Els efectes sobre l'arquitectura del son són més discrepants entre els estudis. Aquesta millora es produeix tant per l'efecte dels compostos en els diferents sistemes de neurotransmissor (dopaminèrgic, colinèrgic, noradrenèrgic, serotoninèrgic i histaminèrgic) com per la millora clínica i reducció de l'estrès associat a la psicosis (Taylor, 1991). Es a dir, que malgrat tot, encara no està clar si el son millora per l'efecte directe de la medicació en el patró de vigília-son o com a conseqüència indirecte de la millora de la situació clínica general.

5.2.1. Efectes dels antipsicòtics típics sobre l'EEG de son

La majoria dels estudis que avaluen els efectes dels antipsicòtics típics de baixa potència (clorpromazina, levopromacina, prometazina, mesoridazina i sulpirida) descriuen propietats inductores del son, amb augments del TST i SE amb increments, no presents en totes les publicacions, de SWS, així com dades molt dispars envers el son REM tant en pacients esquizofrènics com en voluntaris sans.

Els antipsicòtics clàssics d'alta potencia més estudiats (haloperidol, tiotixene, flufenazina, flupentixol i pimozide) demostren uns efectes similars en la millora del son

en pacients esquizofrènics (i no en sans) però contràriament als de baixa potència, existeix una absència clara d'influència en el SWS tan en pacients esquizofrènics com en subjectes sans (Gillin, 1977; Keshavan, 1996; Maixner, 1998; Wetter, 1996). Només en algunes investigacions amb tractaments de períodes llargs i altes dosis, s'observen allargaments de la latència REM (LREM) (Taylor, 1991), però en la majoria dels estudis les mesures de la son REM (percentatge, latència o densitat), resten inalterades tant en pacients esquizofrènics com en subjectes sans (Gillin, 1977, Keshavan, 1996; Maixner, 1998).

Molt pocs estudis han avaluat l'efecte sobre el son de la retirada de la medicació antipsicòtica, però tots ells demostren una empitjorament clar de la qualitat de son posterior. En aquest context, la retirada aguda després de tractaments perllongats amb haloperidol va seguida de una disminució de la SE i de reduccions de TST, SWS, i son REM (Neylan, 1992; Thaker, 1990; Nofzinger, 1993).

5.2.2. Efectes dels antipsicòtics atípics sobre l'EEG de son

Lògicament, donat l'increment d'utilització dels nous antipsicòtics en la pràctica clínica habitual, en els darrers anys també han augmentat considerablement els estudis dels efectes sobre el son dels antipsicòtics atípics.

La clozapina, olanzapina, risperidona, paliperidona, quetiapina i ziprasidona han estat estudiats tant en pacients esquizofrènics com en voluntaris sans. Tots ells, a excepció de la risperidona (Sharpley, 2003) han demostrat propietats inductores del son, amb més TST i SE (Wetter, 1996; Cohrs, 2004; Tandom, 1997).

La seva influència sobre el son NREM és variable, amb disminucions en el percentatge del estadi 1 de son descrites per la clozapina, olanzapina, paliperidona i ziprasidona (Wetter, 1996; Cohrs, 2005; Luthringer, 2007; Touyz, 1978) i augments de

l'estadi 2 després de l'administració de risperidona, quetiapina i ziprasidona en subjectes sans (Cohrs 2004, 2005) i després de clozapina, olanzapina i paliperidona en pacients esquizofrènics (Hinze-Selch, 1997; Salin Pascual, 1999; Luthringer, 2007). Respecte al son SWS, sembla clar que s'incrementa significativament amb l'olanzapina i ziprasidona, disminueix segons alguns estudis amb clozapina (Touyz, 1978; Hinze-Selch, 1997), mentre que no experimenta canvis després del tractament amb paliperidona i risperidona (Luthringer, 2007).

Les dades envers al son REM són les més contradictòries. S'han descrit increments del son REM per l'olanzapina (Müller, 2004) i la paliperidone (Luthringer, 2007), disminucions de son REM després de l'administració de risperidona (Sharpley, 2003), quetiapina (Cohrs, 2004) i ziprasidona en subjectes sans però també després de l'administració d'olanzapina tan en pacients esquizofrènics com en voluntaris sans (Sharpley, 2000). Tanmateix, tot i que els estudis inicials suggerien que la clozapina incrementava la son REM, treballs posteriors, demostren que té poc efecte sobre aquesta variables, tant en pacients amb esquizofrènia (Hinze-Selch, 1997; Wetter, 1996; Lee, 2001; Tandon, 1997) com en subjectes sans (Touyz, 1978). S'han publicat alguns estudis amb la latència de son REM allargada en pacients i sans amb l'olanzapina (Sharpley, 2000, 2003; Müller 2004) i amb clozapina (Tandon, 1997) i ziprasidone (Cohrs, 2005) només en pacients in en voluntaris sans respectivament. La densitat REM sembla incrementada amb la clozapina (Hinze-Selch, 1997; Tandon, 1997) i l'olanzapina (Salin Pascual, 1999) i disminuïda amb la ziprasidona (Cohrs, 2005).

HIPÒTESIS

HIPÒTESIS

La revisió realitzada origina dues conclusions importants: una es la importància de l'estudi conjunt de l'esquizofrènia i el seu tractament en el son i la segona és la incapacitat de consensuar dades i establir unes conclusions definitives donat les limitacions existents entre els estudis realitzats. D'acord amb aquests fets, la hipòtesis principal de la present tesi proposa que la realització d'un estudi ben controlat i dissenyat que avaluï l'efecte real dels neuroleptics en el son en l'home ajudarà a clarificar l'impacta específic que aquests fàrmacs tenen directament sobre el son i poder extrapolar posteriorment conclusions definitives en l'àmbit clínic.

Per solucionar les discrepàncies metodològiques existents en estudis anteriors, es pressuposen les següents hipòtesis específiques:

H1

L'administració oral de dosi única dels diferents antipsicòtics al matí en voluntaris sans provocaran canvis significatius en el son, inclús 15 hores després de la seva administració.

1. La realització d'un estudi ben controlat en individus sans permetrà determinar l'efecte real "per se" del fàrmacs sobre el son, independent de la influencia d'aquests compostos sobre els símptomes psicòtics.
2. L'administració oral de dosis única al matí dels diferents antipsicòtics provocaran canvis significatius en el EEG de son, visibles en la macroestructura del son.
3. L'administració oral de dosi única dels diferents antipsicòtics al matí provocaran canvis significatius addicionals en la microestructura i dinàmica del son,

objectivats per mètodes d'anàlisi espectral, ja que són anàlisis molt més sensitius per avaluar l'efecte farmacològic d'un compost en el EEG de son.

4. L'administració oral de dosi única dels diferents antipsicòtics al matí provocaran canvis en l'avaluació dels efectes subjectius sobre el son .
5. Els canvis objectius i subjectius en el son produïts pels antipsicòtics seran presents 15 hores després de la seva administració.
6. Els efectes dels antipsicòtics en el son seran diferents d'acord amb el distint perfil neurobioquímic de cada compost

H2

Després de l'administració al matí dels antipsicòtics, es donarà una relació entre els canvis de l'EEG de vigília i del son. La correlació existent entre els biomarcadors EEG de la homeòstasi del son (activitat theta en vigília i SWA en el primer cicle de son NREM) observada en condicions experimentals de privació de son, també serà present després d'intervencions farmacològiques que reproduïxin la mateixa situació experimental.

H3

Donat que les dones presenten millor evolució clínica i millor resposta als neuroleptics que els homes en els pacients esquizofrènics, és d'esperar que existeixin diferències entre sexes en els efectes sobre el EEG de son induïts pels antipsicòtics.

OBJECTIUS

OBJECTIUS

O1

Avaluar els efectes sobre el son de dos antipsicòtics atípics diferents (olanzapina i risperidona) en comparació amb un antipsicòtic típic (haloperidol) després d'una administració única al matí en voluntaris sans.

1. Realitzar un estudi randomitzat i creuat de quatre períodes, doble cec, controlat amb placebo en voluntaris sans, per determinar l'efecte real d'aquests fàrmacs sobre el son en absència de factors de confusió.
2. Avaluar els canvis en la macroestructura del son a partir de les dades polisomnogràfiques (8 hores de registre nocturn) analitzades mitjançant mètodes d'anàlisi visual tradicional (Rechtschaffen and Kales).
3. Avaluar els canvis en la microestructura i dinàmica del son, objectivats mitjançant mètodes d'anàlisi quantitativs addicionals d'anàlisi espectral.
4. Avaluar els efectes subjectius sobre el son i les possibles diferències després de l'administració dels diferents antipsicòtics al matí.
5. Avaluar els canvis objectius i subjectius en el son 15 hores després de l'administració dels antipsicòtics.
6. Avaluar les diferències entre els efectes dels diferents antipsicòtics en el son segons el perfil neurobioquímic de cada compost.

O2

Estudiar la rellevància dels canvis EEG després de l'administració dels antipsicòtics en el continu vigília-son de 24 hores. S'investigarà si la relació existent entre els biomarcadors EEG de la homeòstasi del son també es reproduïx després de l'administració d'olanzapina, determinant la correlació entre els canvis de l'activitat

theta durant la vigília amb els canvis de l'activitat d'ondes lentes (SWA) durant el primer cicle de son NREM.

O3

Investigar si existeixen diferències entre sexes en els efectes sobre l'EEG de son, induïts per la olanzapina en voluntaris sans.

MÈTODES

MÈTODES

Participants

Es van seleccionar 20 voluntaris sans d'ambdós sexes (10 homes i 10 dones) de la base de dades del CIM-Sant Pau, confirmats per entrevista clínica i anàlisi bioquímics, d'acord amb els criteris d'inclusió i exclusió establerts. L'absència d'alteracions del son es descartà addicionalment mitjançant barems subjectius (Qüestionari de son de Pittsburg <5) i objectius (polisomnografia control : index apnea-hipopnea (AHI) $<5/h$; index de moviments periòdics de les cames (PLMI) $<5/h$).

Intervencions

Registres polisomnogràfics (PSGN)

1 PSGN adaptació, 1 PSGN control, 8 PSGN període experimental (4 PSGN basal- 4 PSGN experimental).

Fàrmacs

S'administraren, al matí i en dejú, dosis orals úniques d'haloperidol (3mg), risperidona (1mg), olanzapina (5mg) o placebo. Les dosis del fàrmac actiu seleccionades es troben en l'extrem inferior del rang de dosi considerada eficaç en el tractament de la esquizofrènia, minimitzant així l'aparició d'efectes indesitjables sense incrementar el risc de no observar canvis en el son. Les dosis seleccionades son clínicament comparables.

Haloperidol

És una butifèrona amb gran afinitat pels receptors D2 i menys pels alfa-adrenèrgics. L'haloperidol és l'antipsicòtic típic més utilitzat ja que presenta una gran potència antipsicòtica i antiemètica i escassa capacitat per a produir sedació i signes de

bloqueig alfa-adrenèrgic. S'absorbeix bé per via oral amb una biodisponibilitat del 60-65%. Presenta metabolisme de primer pas, amb ràpida absorció : Tmax de 2-6 h (via oral). S'uneix a proteïnes plasmàtiques en un 92%. Es metabolitza mitjançant dos mecanismes: N-desalquilació microsòmica (depenent del citocrom P-450) i reducció en haloperidol reduït, que presenta una activitat que és el 25% de l'activitat original. La semivida d'eliminació és de 18-24 h (figura 8).



Figura 8: Haloperidol. (Stahl 2000)

Olanzapina

És una tienobenzodiazepina que té una estructura química base semblant a la clozapina. Presenta un gran espectre d'afinitat pels receptors D2, D3, D4, 5HT2A, 5-HT2B, 5HT2C, 5HT6, H1 ALFA1 muscarínics. Té més afinitat pels 5HT2A que pel D2, però d'altre banda no té afinitat pel 5HT1A ni pel alfa 2. En conjunt, la seva activitat bloquejant D2 és més gran en el sistema mesolímbic que en nigroestriat. La dosi òptima sembla estar entre els 10 i 20 mg/dia. Administració via oral o intramuscular. La seva biodisponibilitat és del 60% (oral). Metabolisme de primer pas. L'absorció és ràpida (Tmax de 2-6 h, via oral; 10-20m, i.m). S'uneix a proteïnes en un 93%, i és metabolitzada al fetge per una gluconil transferasa i per CPYP1A2 I D6. El temps d'eliminació és de 36h (figura 9).

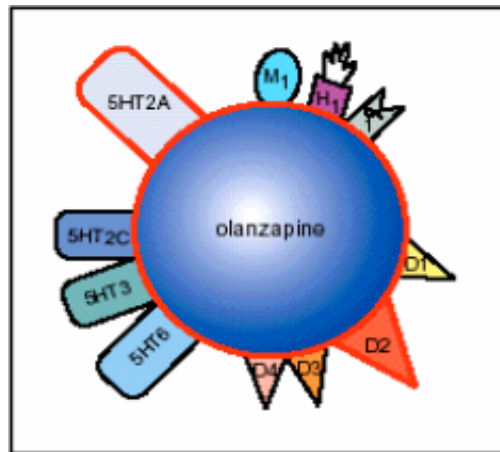


Figura 9: Olanzapina. Stahl (2000)

Risperidona

La risperidona és un derivat benzisoxazòlic, amb gran afinitat pels receptors serotoninèrgics HT_{2A} i dopaminèrgics D_2 , tot i que també s'associa als 5-HT₇, α_1 i α_2 . Biodisponibilitat del 75%. T_{max} 2 h. S'uneix a proteïnes plasmàtiques en una 80-90%. Es metabolitza en un 30-70% al fetge donant lloc a un metabòlit (9-hidroxi-risperidona) de la mateixa potència que la risperidona. S'elimina sobretot amb l'orina, en un 40% en forma de fracció activa (piperidina més metabòlit actiu). La semivida de eliminació és de 3h (figura 10).

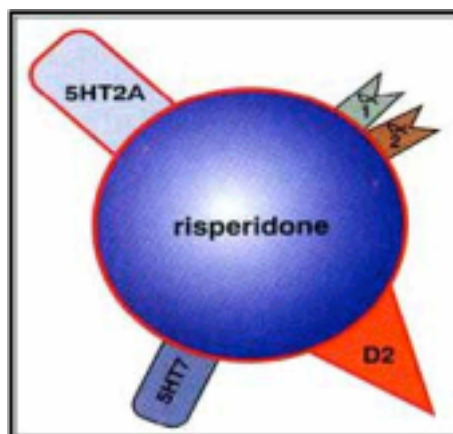


Figura 10: Risperidona. (Stahl 2000)

Disseny

Estudi creuat de quatre períodes, randomitzat, doble cec i controlat amb placebo.

Administració del fàrmac al matí

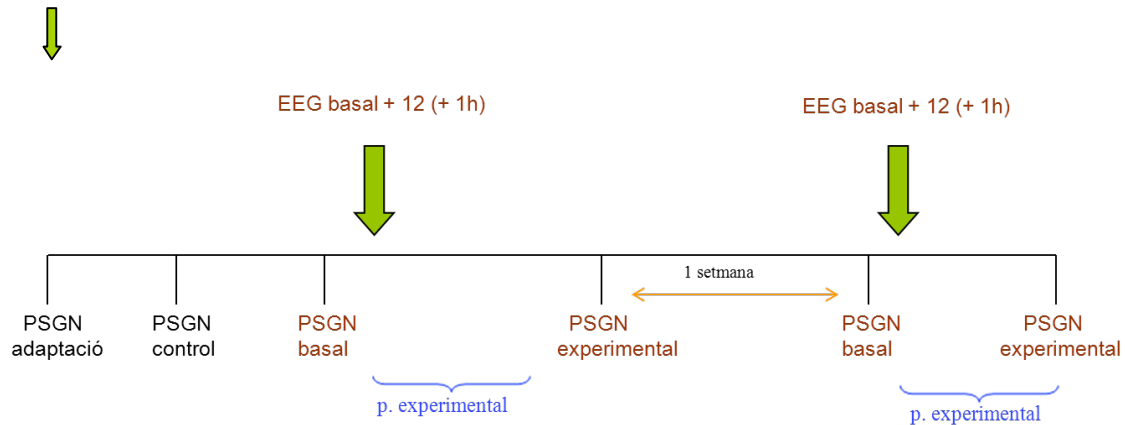


Figura 11: Esquema de l'estudi

Anàlisi de les variables de son

A partir de l'esquema inicial s'en deriven 3 estudis diferents.

Estudi 1.

Valoració subjectiva: Versió espanyola del qüestionari de qualitat de son i del despertar (*self-assessment scale for sleep and awakening quality, SSA*).

Valoració objectiva: Avaluació dels efectes sobre l'EEG de son de neurofàrmacs de diferent perfil bioquímic : Anàlisi de les variables de son a partir de les dades polisomnogràfiques de 5 PSGN (1 PSGN control i 4 PSGN experimental) mitjançant mètodes visuals tradicionals (R&K) i anàlisi de la microestructura i dinàmica del son per tècniques d'anàlisi espectral

Resultats en: *Effects of olanzapine, risperidone and haloperidol on sleep after single oral morning dose in healthy volunteers.*

Estudi 2.

Valoració objectiva: Anàlisi de les variables homeostàtiques de vigília i son a partir de l'anàlisi quantitatiu del EEG, mitjançant el càlcul del poder espectral de l'activitat theta diürna i de l'activitat d'ondes lentes (SWA) nocturna:

- *EEG diürn:* EEG basal + 12 EEG (a intervals de 1h) després de l'administració de la medicació (olanzapina i placebo).
- *EEG nocturn:* 2 PSGN experimental (olanzapina i placebo)

Resultats en: *Waking and sleep EEG variables as human sleep homeostatic process biomarkers after drug administration.*

Estudi 3.

Valoració objectiva: Valoració de les diferències PSG entre sexes: Valoració de 2 PSG experimentals (olanzapina i placebo) per homes i dones. Anàlisi visuals seguint els criteris de R&K i anàlisi de la microestructura i dinàmica del son per tècniques d'anàlisi espectral.

Determinació de les concentracions plasmàtiques de la olanzapina per a la determinació de les variables farmacocinètiques (PK).

Resultats en: *Sex differences in sleep after a single oral morning dose of olanzapine in healthy volunteers.*

RESULTATS

PUBLICACIONS ORIGINALS

Marc de la tesi doctoral

Aquesta tesi doctoral s'ha desenvolupat gràcies a la col·laboració del Grup de Recerca del *Centre d'Investigació de Medicaments* (CIM-Sant Pau), englobat dins Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i *Institut d'Investigacions Biomèdiques Sant Pau* (IIB Sant Pau) de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona en col·laboració amb les següents institucions:

- Servei de Farmacologia Clínica de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona.
- Servei de Psiquiatria de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona.
- Centro de Investigación Biomédica en Red en Salud Mental (CIBERSAM).
- Centre de Recerca en Enginyeria Biomèdica (CREB) del Departament d'Enginyeria de Sistemes, Automàtica i Informàtica Industrial (ESAI) de la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC). Centre d'Investigació Biomèdica en Red en Bioenginyeria, Biomaterials i Nanomedicina, CIBERBBN.

Els diferents treballs que han originat els articles que es presenten a continuació s'han realitzat en l'àmbit dels següents projectes d'investigació:

- ***“Canvis a l'EEG darrera d'una administració oral única de neuroleptics a l'Esquizofrènia: Avaluació de les característiques com a predictor de resposta utilitzant una estratègia alternativa amb familiars i integrant nivells plasmàtics i neuroleptics atípics”*** finançat per la Fundació La Marató de TV3 Fundació La Marató de TV3 amb referència 013300 entre els anys 2002 y 2004.

- **“Tratamiento en interpretación de señales biomédicas para la evaluación clínica y la rehabilitación”** (referència TEC2004-02274), finançat per la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) entre els anys 2004 i 2007.
- **“Análisis de las interacciones dinámicas en bioseñales no invasivas multicanal para la terapia y la rehabilitación”** (referència TEC2008-02754/TEC), finançat pel Ministerio de Ciencia e Innovación entre els anys 2009 i 2011.

Presentació de les publicacions

Les pàgines d'aquesta secció contenen els articles publicats en revistes indexades, en ordre cronològic, corresponents al compendi de publicacions que conformen la present tesi.

- El primer d'ells, publicat a la revista *Psychopharmacology* en 2007 (factor d'impacte 2007: 3,561). Primer quartil en la categoria “*Pharmacology & Pharmacy*” i en segon quartil en les categories “*Neurosciences*” i “*Psychiatry*”. S'analitzen els efectes objectius i subjectius sobre els son després de l'administració de diferents neuroleptics al matí en voluntaris sans. Fins al dia d'avui, aquest article ha rebut 18 cites per part d'altres treballs.
- El segon estudi, està publicat a la revista *Neuropsychobiology* en 2010 (factor d'impacte: 2,567). Segon quartil a les categories “*Psychiatry*” i “*Psychology*”. Avalua els efectes dels neuroleptics en el contínuum del cicle vigília son de 24 hores.
- El tercer article, està publicat a la revista *Human Psychopharmacology. Clinical and Experimental* en 2011 (factor d'impacte 2010: 2,607). Segon quartil a les

categories “*Clinical Neurology*”, “*Pharmacology & Pharmacy*”, “*Psychiatry*” i “*Psychology*”. S’analitzen les diferències farmacodinàmiques dels efectes polisomnogràfics resultants de l’administració dels neurolèptics entre sexes.

Effects of olanzapine, risperidone and haloperidol on sleep after single oral morning dose in healthy volunteers.

Giménez, Sandra; Clos, Susana; Romero, Sergio; Grasa, Eva; Morte, Adelaida; Barbanoj, Manuel.

Psychopharmacology (2007) 190:507-516.

Psychopharmacology
DOI 10.1007/s00213-006-0633-7

ORIGINAL INVESTIGATION

Effects of olanzapine, risperidone and haloperidol on sleep after a single oral morning dose in healthy volunteers

Sandra Giménez · Susana Clos · Sergio Romero ·
Eva Grasa · Adelaida Morte · Manuel J. Barbanoj

Received: 1 August 2006 / Accepted: 25 October 2006
© Springer-Verlag 2006

Abstract

Objectives To compare the effects of typical and atypical antipsychotic drugs on sleep activity and subjective sleep quality.

Design Randomised, double-blind, placebo-controlled, four-period cross-over, clinical trial was used to evaluate the effects of active treatments on objective and subjective sleep variables.

Setting Sleep laboratory evaluation.

Participants Twenty healthy young volunteers, both sexes.

Interventions Single oral morning administrations of olanzapine 5 mg, risperidone 1 mg, haloperidol 3 mg and placebo.

Measurements and results Five polysomnographic nights were evaluated: one control night and one after each intervention. Significant increase in total sleep time, sleep efficiency, slow wave sleep (SWS) and rapid eye movement (REM) sleep with decreases in wake time were

observed after olanzapine. Decreases in wake time, REM sleep and stage shifts together with increases in stage 2 were obtained after risperidone. Haloperidol showed only a tendency to increase sleep efficiency and stage 2 and to decrease wake time. Olanzapine showed decreases in power density in frequencies higher than 10 Hz during all sleep stages and in frequencies lower than 5 Hz range in SWS; decreases in the dynamics of spindle frequency activity (SFA) in the second and fourth non-rapid eye movement (NREM) episodes were also obtained. Risperidone presented increases in the 3.6–10.8 Hz frequency range in NREM sleep stages and in stage 2. Haloperidol also showed increases in NREM sleep stages and in stage 2, but these were in frequencies higher than 10 Hz, with increases in the dynamics of SFA in the first NREM episode. Only a significant improvement in subjective sleep quality was observed after olanzapine.

Conclusions Antipsychotics showed different sleep changes as their neurochemical profiles were distinct. These changes were observed even when the drug was administered 15 h before going to bed.

Keywords Antipsychotics · Polysomnography · Spectral analysis · Subjective evaluations · Healthy volunteers · Single morning oral intake

S. Giménez · S. Clos · S. Romero · E. Grasa · A. Morte ·
M. J. Barbanoj
Centre d'Investigació del Medicament, Institut de Recerca de
l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau,
Barcelona, Spain

M. J. Barbanoj
Servei de Farmacologia Clínica,
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau,
Barcelona, Spain

S. Giménez · M. J. Barbanoj (✉)
Departament de Farmacologia i Terapèutica, UAB,
Barcelona, Spain
e-mail: mbarbanoj@santpau.es

S. Romero
Centre de Recerca en Enginyeria Biomèdica,
Departament ESAIL, UPC,
Barcelona, Spain

Introduction

Antipsychotic agents have been widely used since their introduction in the 1950s primarily in the treatment of schizophrenia and other psychotic disorders (Tandon 1998). Phenothiazines, butyrophenones and thioxanthenes constitute the group of classical or typical antipsychotic drugs. Chlorpromazine and haloperidol are commonly

taken as prototypes for this group. Their main pharmacologic activity is to block dopamine D₂ receptors, and their principal benefits include control of active psychotic symptoms, management of severe agitation and reduction in assaultive behaviour and risk of psychotic relapse during maintenance treatment. However, they have inherent limitations, especially in treating negative and cognitive deficits associated with schizophrenia (Worrel et al. 2000). Their side effects include anticholinergic effects, hyperprolactinemia, short-term movement disorders (extrapyramidal side effects) and potential long-term movement disorders (tardive dyskinesia) (Tandon 1998). Atypical antipsychotic drugs were developed in response to these drawbacks. They include dibenzodiazepines (clozapine and quetiapine), benzisoxazoles (risperidone), and thienobenzodiazepines (olanzapine). In addition to the blockage of dopamine D₂ receptors, they also act as antagonists on serotonin 5-hydroxytryptamine (5-HT)₂ receptors. Atypical antipsychotics improve efficacy in refractory patients, have broader efficacy in treating positive and negative symptoms, improve cognitive functioning, lower the incidence of movement disorders and show minimal perturbation on serum prolactin levels (Worrel et al. 2000).

Assessing drug-induced effects on sleep in healthy young volunteers is a valuable contribution towards understanding drug-disease interactions because conclusions concerning the pharmacological effects of a compound per se on sleep may be drawn in the absence of confounding factors such as the pathological condition, lifestyle or adverse events (Warrington 1997). Despite its widespread use in visual sleep scoring, the conventional Rechtschaffen and Kales (R&K) criteria provide insufficient information about the continuity of sleep stages. It has been shown that all-night spectral analysis is a sensitive method for documenting pharmacological effects on sleep EEG (Borbély et al. 1983). It not only detects shifts between the various sleep stages during the night, but also takes into account the qualitative alterations of certain stages (Schlösser et al. 1998).

Thus, the aim of the current study was to evaluate the sleep effects of two atypical antipsychotic drugs (olanzapine and risperidone), showing different brain neurobiochemical interactions, in comparison with those of a typical agent (haloperidol). We used a design, which would highlight two important points: (1) cross-over in young healthy subjects (to control for interindividual differences and disease bias) and (2) a single morning administration (to assess night effects and highlight the non-compartmental nature of the wake-sleep cycle). We emphasised all-night sleep EEG spectral analysis, although the traditional R&K procedure was also applied for comparison purposes with previous studies.

Materials and methods

Study population

Healthy young adult volunteers of either gender were selected from the pool of volunteers at the Pharmacology Research Unit (Research Institute), Santa Creu i Sant Pau Hospital, Barcelona, Spain. Medical interviews and examinations, clinical chemistry, haematology and urinalysis tests were performed within 21 days before study initiation. Exclusion criteria included any history of medical or psychiatric illness (non-patient version of the Structured Clinical Interview for DSM-IV), and all participants were screened for subjective sleep disturbances (Pittsburg Sleep Quality index < 5). The first polysomnography (PSG) night, in addition to familiarisation purposes, allowed us to objectively exclude any undiagnosed sleep disorder (AHI < 5/h; PLMI < 5/h). Pre-study examinations also included drug screening, serological testing (for hepatitis B and C and HIV) and serum pregnancy test for women. The subjects' habitual alcohol, coffee and cigarette consumptions were insufficient to provoke withdrawal effects when the substances were not allowed in the 24 h before and after each study day, as it was required in this study (≤ 39 g absolute alcohol/day, ≤ 100 mg caffeine/day, ≤ 5 cigarettes/day). No strenuous physical exercise or naps were allowed in the 24 h before each experimental session or in the following 24 h. Participants were requested not to take any medication during the study without the investigator's prior knowledge and were asked to keep regular sleep-wake habits in the month before the study and during the study itself. The latter was verified by checking individual sleep diaries.

The trial was approved by the center's Research Ethics Committee and the Spanish Drug Agency, and was conducted following the principles stated in the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines. All volunteers gave written informed consent before the start of the trial and were paid for their participation.

Study design

A randomised, double-blind, placebo-controlled, four-period cross-over design was used to evaluate the effects of active treatments on objective and subjective sleep variables. Drugs were orally administered in the morning (8 A.M.) under fasting conditions at the following dosages: olanzapine 5 mg, risperidone 1 mg, and haloperidol 3 mg. These dosages, although lower than clinical doses at the low effective therapeutic range (olanzapine 10 mg/day, risperidone 2 mg/day and haloperidol 5 mg/day; Miyamoto et al. 2002) as they were administered to healthy volunteers can roughly be considered as equipotent for a pharmacodynamic point of view. After drug intake, the subjects remained

the whole day in the laboratory where spontaneous vigilance-controlled EEG recordings were assessed at different time points. They were under continuous supervision and were not allowed to nap. Results from the pharmaco-EEG mapping study have been separately published in summary form (Barbanoj et al. 2004). A 1-week washout window before the administration of the next treatment was established. Subjects spent a total of ten nights in the sleep laboratory. The first night was considered an adaptation night to familiarise volunteers with the laboratory and recording procedures whereas the second was considered a control night, and no medication was given. All volunteers performed these two nights within 3 weeks before the study period. Each experimental period included a baseline night, morning drug administration, full-day under controlled vigilance conditions and following night in the sleep laboratory. Results from the control night and from the four nights after drug administration were considered for the final sleep evaluations.

Sleep recordings were performed in individual, sound-attenuated, temperature-regulated rooms, and volunteers were supervised by qualified technical staff. Volunteers started sleep procedures by 8.00 P.M. and had dinner by this time. The total time in bed was fixed at 8 h. The lights were turned off around 11.00 P.M. and turned on around 7 A.M. the following morning. In addition, no later than 15 min after having woken up each morning, the volunteers completed a self-rating scale on their subjective quality of sleep and awakening (SSA; Saletu et al. 1987a).

Recordings and sleep stage classification

Two computed PSG systems were used: Coherence 32E-Deltamed and Sleep Lab-Aequitron Medical Recordings. The same system was used for all recordings from each volunteer. The recordings consisted of six EEG channels (Fp1, Fp2, C3, C4, O1, O2 referenced to average mastoid [A1–A2], according to the international 10–20 system), 2 electrooculographic leads (EOG; right and left, recorded between the two external canthi, with capacity to detect ocular movements in both directions: horizontal and vertical), and 1 chin electromyographic channel (EMG), consisting of two electrodes placed on the submentonian muscles, which monitored muscular tone. Four channels were included to monitor the respiratory function, one for airflow signal, two channels to record rib cage and abdominal motion, and a fourth for oxygen saturation. Heart rate variability was controlled by means of an electrocardiogram (ECG) channel. Finally, limb movements were monitored using two channels with linked electrodes on both right and left anterior tibialis. EEG and EOG channels were filtered to a bandwidth of 0.1–75 Hz with a sensitivity of a 10 μ V/mm. EMG was filtered to a bandwidth of 10–75 Hz with a sensitivity of 50 μ V/mm. A 50-Hz notch

filter was used to attenuate electrical noise. The electrodes were gold-plated. Channels were calibrated before each recording, and the electrode impedance was kept below 10 K Ω .

The sleep recordings were visually scored in a 30-s epoch resolution according to the traditional standard R&K criteria (Rechtschaffen and Kales 1968) using the View and Rate (Cdatentechnik GbR, © 1995–1999 3.02 version) program. Analysis was performed by two independent sleep scorers. Discrepancies were solved by a third expert from the same laboratory. Each scorer was blinded to the other raters' analysis and medication status.

Sleep variables were derived by visual scoring using standard criteria, and were classified into three groups: (1) sleep initiation and maintenance, (2) sleep architecture and (3) number and average duration of non-rapid eye movement (NREM) and rapid eye movement (REM) periods and sleep cycles. Completed NREM–REM cycles were defined from the onset of stage 2 sleep until the end of REM sleep.

EEG power spectra

EEG signal was high-pass (0.3 Hz) and low-pass (35 Hz) filtered before being converted from analogue to digital, with a sampling frequency of 256 Hz. Power spectra of 5-s artefact-free epochs, weighted by a Hanning window, were computed using the Fast Fourier Transform and matched with the sleep scores. Artefact epochs containing either saturation or muscle activity were automatically identified and eliminated. Power density values (C4A1 derivation) were averaged into 0.4 Hz (0.2–6.0 Hz) and 0.8 Hz (6.2–26.0 Hz) bins. The spectra were calculated separately for non-rapid eye movement sleep (NREMS; stages 1, 2, 3 and 4), stage 2 (S2), slow wave activity (slow wave sleep [SWS], stages 3 and 4) and REMS.

Dynamics of slow wave activity (SWA), spindle frequency activity (SFA) during whole night and delta EOG activity during REM sleep (DEA)

Power spectra in delta (0.5–4.0 Hz) and sigma (11.0–15.0 Hz) activities in C4A1 derivation during the whole night and in delta (0.5–4.0 Hz) in EOG channels during REM sleep was obtained from 5-s artifact-free epochs. Slow activity in EOG channels during REM sleep was used as representative of phasic REM activity intensity. A moving average estimation of 5 min duration was computed to smooth their time course through the night. Consecutive NREM–REM cycles were defined according to modified criteria of Feinberg and Floyd (1979). NREM episodes starting with stage 2 and containing at least 15 min of stages 2, 3 and 4 were succeeded by REM episodes of at least 5 min duration. For the completion of the first cycle, no minimal criterion for the REM duration was applied.

To compensate for the individual differences in the occurrence and duration of the NREM-REM cycles, a method derived from Aeschbach and Borbély (1993) was used. For SWA and SFA, each NREM period of unequal length was subdivided into 24 equal parts, and each REM period into four equal parts. They were then averaged across subjects. For DEA, each REM period of unequal length was subdivided into 24 equal parts and averaged across subjects. Changes in the three dynamic activities were evaluated on the raw data by calculating areas under the curves (AUC) in each cycle.

Sleep and awakening quality self-rating scale.

A Spanish (Castellano) translation of the questionnaire "self-assessment scale for sleep and awakening quality (SSA)" was used (Saletu et al. 1987a). All subjects were fluent in Spanish (Castellano) even in cases where this was not the mother tongue. The SSA consists of 20 items comprising three categories: (1) SSA-1 (seven items), which evaluates subjective sleep quality, (2) SSA-2 (eight items), evaluating subjective awakening quality, (3) SSA-3 (five items), evaluating the presence of somatic complaints. Responses are coded according to an ordinal scale with 4 possibilities (not at all, slightly, moderately, extremely). In the coding process, the values 1, 2, 3 or 4 are assigned in such a way that a higher score means a worse subjective quality, with the theoretical score ranging from 20 to 80 for the global scale (SSA), 7 to 28 for SSA-1, 8 to 32 for SSA-2 and 5 to 20 for SSA-3. Furthermore, the questionnaire presents five additional open questions related to different moments of the night, from which subjective sleep latency (SSL) and subjective sleep efficiency (SSE) are calculated.

Statistical analysis

The similarity between PSG and SSA target variables on the control night and the night participants took placebo was evaluated by means of *t* tests for repeated measures.

To assess the effects of the various active treatments on PSG and SSA, general lineal models (GLM) with one within-subject factor (treatment, 4 levels) were applied to each variable separately. In all variables, results were pair-compared by means of *t* test for repeated measures if required. Greenhouse-Geisser ϵ correction was used. To assess the effects on EEG power spectra at the different sleep stages and on the AUCs of its dynamics, *t* tests for repeated measures were applied to each frequency bin or AUC, respectively, comparing placebo with any active treatments.

Differences were considered significant when the probability of a type I error was less than 0.05. SPSSWIN version 6.1 was utilized.

Results

Study population

The study sample was made up of 20 healthy young volunteers (ten men and ten women). Mean age was 26.9 years (range 21–37), mean weight was 64.3 kg (range 51.0–86.5) and mean height was 167.5 cm (range 158–186). Due to technical problems related to computer software, the data of three subjects had to be excluded from the analysis, leaving a final total of 17 (nine men and eight women). No significant differences were observed between the total and the evaluated sample in these demographic characteristics. All participants completed the trial and were compliant with the study protocol, and all active treatments were well tolerated.

PSG sleep variables

No significant differences were observed in any sleep initiation and maintenance, sleep architecture, nor NREM-REM period variables evaluated between the control night and the night with placebo.

Sleep initiation and maintenance

Sleep latencies were shorter after all treatments but did not reach statistical significance in any case. A statistically significant decrease was obtained in REM latency after olanzapine in relation to risperidone. Latency in SWS sleep presented the opposite pattern, with olanzapine showing the longest latency and risperidone the shortest (Table 1).

Significant differences between treatments were observed in total sleep time (TST), sleep efficiency and wake time, both when computed as a percentage of TST and when calculated in absolute minutes. Olanzapine significantly increased TST and sleep efficiency in comparison with all the other treatments. It significantly decreased wake time in comparison with placebo and haloperidol. A statistically significant decrease in wake time when evaluated in total number of minutes was observed after risperidone in comparison to placebo (Table 1).

Sleep architecture

No significant effects were observed in sleep stage 1 or movement time. However, olanzapine showed significantly less sleep stage 1 in relation to placebo. On the other hand, significant differences between treatments were observed in sleep stages 2, SWS and REM. Significant increases were obtained in stage 2 after risperidone compared to placebo, olanzapine and to a lesser extent to haloperidol. Significant

Psychopharmacology

Table 1 Sleep initiation and maintenance measures after one single oral morning administration of olanzapine 5 mg, risperidone 1 mg and haloperidol 3 mg (means±SEM; n=17)

	Control	Placebo	Olanzapine	Risperidone	Haloperidol	Manova	Paired <i>t</i> test
Latency to stage 1 (min)	13.23±13.2	13.5±27.36	5.3±6.1	14.6±23.4	9.6±11.8	0.527	
Latency to stage 2 (min)	22.7±18.23	16.4±28.7	9.9±8.1	17.9±23.3	12.6±11.3	0.346	
Latency to delta (min)	16.1±5.06	18.7±19.98	21.2±15.4	16.2±8.9	17.97±7.9	0.739	
REM Latency (min)	84.3±37.43	83.8±31.2	66.6±27.8	85.9±28.9	82.2±32.05	0.119	R vs O**; R vs P+
Time in bed (min)	480.4±2.33	479.1±4.23	477.9±7.9	479.1±2.03	476.9±9.4	0.781	
Total sleep period (min)	456.5±17.6	462.1±29.03	467.9±10.5	450.9±37.2	460.3±20.1	0.169	
Total sleep time (min)	436.5±36.48	422.5±59.6	461.6±13.3	438.1±43.3	444.2±28.3	0.013	O vs P**; O vs H**; O vs R*
Sleep efficiency (%)	90.9±7.66	88.2±12.37	96.6±2.63	91.4±9.06	93.2±5.9	0.005	O vs P**; O vs H**; O vs R*; P vs H+
Wake/TSP (min)	19.9±50.1	39.5±49.3	6.2±8.2	12.8±15.3	16.1±19.02	0.010	O vs P**; O vs H*; O vs R*; P vs R*; P vs H+
Wake/TSP (%)	4.3±12.1	8.62±11.1	1.34±1.75	2.9±3.4	3.5±4.15	0.011	O vs P*; O vs H*; O vs R*; P vs H+; P vs R+

P placebo, O olanzapine, R risperidone, H haloperidol

+*p*<0.10

**p*<0.05

***p*<0.01

increases in SWS were observed after olanzapine in relation to all the other treatments. Significant increases in REM sleep were obtained after olanzapine in relation to placebo. However, significant decreases in REM sleep were observed after risperidone in relation to olanzapine and haloperidol (Table 2).

Stage shifts during time in bed presented significant differences between treatments. Risperidone showed significantly fewer shifts than placebo and haloperidol, and olanzapine showed significantly fewer shifts than haloperidol (Table 2).

NREM-REM periods

Although no significant differences between treatments were observed in any NREM-REM period variables, significant increases after olanzapine in average duration of sleep cycles in relation to placebo, in average NREM periods in relation to placebo and haloperidol and in average REM periods in relation to risperidone, were obtained.

Spectral analysis

EEG power spectra

Mean all-night power spectra is presented in Fig. 1. The values for drug nights are expressed as a percentage of the placebo night.

NREMS power spectrum showed a different pattern depending on the active treatment. Statistically significant values below the placebo level were obtained after olanzapine in the high-frequency range (frequencies higher than 10 Hz). After risperidone and haloperidol, statistically significant values above the placebo level were reached. These were within the 3.6–10.8 Hz frequency band after risperidone and at frequencies above 18 Hz after haloperidol. The spectrum in stage 2 was very similar to that of NREMS except for an additional significant increase of power at the 0.8–1.2 bins after risperidone. However, the SWS spectrum showed different results. Olanzapine induced additional significant reductions, at the 0.8–4.8 frequency band, and risperidone induced significant increases within the high-frequency range bins (14.8–16.4, 18.8, 22.0, 24.4). No significant changes were observed after haloperidol. In REMS, power density was significantly reduced in comparison to placebo after olanzapine in the 11.6–22.0 Hz frequency range and was increased after haloperidol at the 5.2–5.6 bins.

Dynamic of SWA

On all nights, either after placebo or active drugs, SWA was higher in NREMS and lower in REMS, and a declining trend was presented over consecutive NREMS episodes. No significant changes were observed in the amount of SWA between any active treatment and placebo. Dynamics

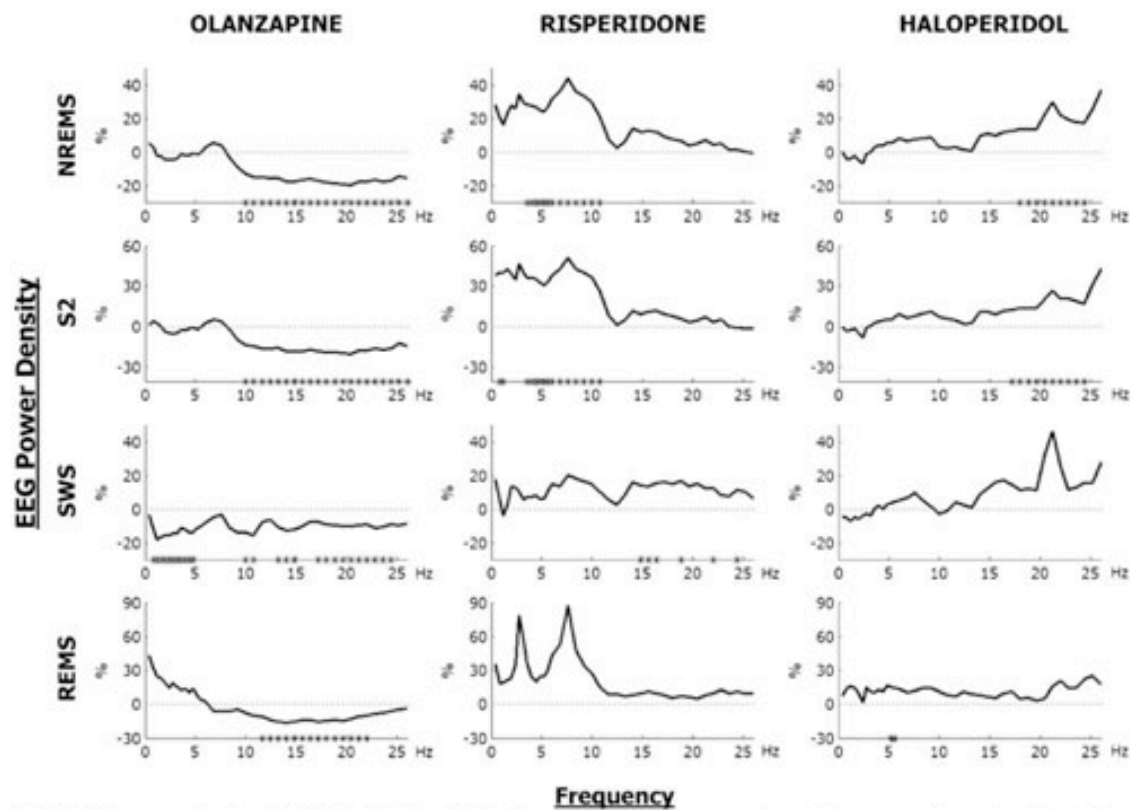


Fig. 1 EEG power density (C4A1-derivation) in NREM sleep (NREMS, stages 1, 2, 3 and 4), stage 2 (S2), slow wave sleep (SWS, stages 3 and 4) and REM sleep (REMS) after one single oral morning administration of olanzapine 5 mg, risperidone 1 mg and haloperidol 3 mg. For each frequency bin ($n=17$), means were

expressed as a percentage of the corresponding value after placebo (horizontal dashed lines at 0%). Asterisks at the bottom of the panels indicate frequency bins which differed significantly from placebo ($p < 0.05$, t tests for repeated measures)

the lack of significant differences in any PSG variables and subjective reports between the control night and the night with placebo indicate an adequate adaptation to the sleep laboratory conditions and guarantee the relevance of the analysis strategy selected, that is, the application of GLM directly to the row data after each experimental intervention without any adjustment for baseline recordings.

Regarding PSG effects, olanzapine showed a consistent hypnotic effect by increasing TST and sleep efficiency and decreasing wake time. The reduced sleep latency onset, although not statistically significant, agreed with this pattern. Concerning sleep architecture, SWS and REM sleep were increased. Significant increases in the average duration of sleep cycles and in both NREM and REM periods, mainly in the former, were also obtained. Results on sleep initiation and maintenance measures, as well as on SWS, are in concordance with previous reports where olanzapine was found to improve sleep continuity and produce dose-related SWS increases in schizophrenic

(Salin-Pascual et al. 2004) and healthy volunteers (Sharpley et al. 2000; Lindberg et al. 2002). Olanzapine is a potent 5-HT_{2A/2C} antagonist, and studies in humans and animals have shown that 5-HT_{2A/2C} receptors, primarily 5-HT_{2C}, are involved in the regulation of SWS (Sharpley et al. 1994). Accordingly, it has been calculated that the 50% increase in SWS observed after olanzapine (5 mg) corresponds to a central occupancy of 5-HT_{2C} receptors of at least 70%. On the other hand, the blockade of histamine-H₁ receptors and alpha₁ adrenoreceptors has also been proposed as a possible mechanism underlying some of the hypnotic effects of olanzapine such as the decrease in sleep latency onset (Sharpley et al. 2000) and wake time (Sharpley et al. 2000; Lindberg et al. 2002; Salin-Pascual et al. 2004). Regarding the results on REM variables, in the present study we observed an increase in REM sleep and a non-significant reduction in REM latency, in clear contrast with the decrease in REM percentage commonly reported after olanzapine intake (Sharpley et al. 2000; Lindberg et al.

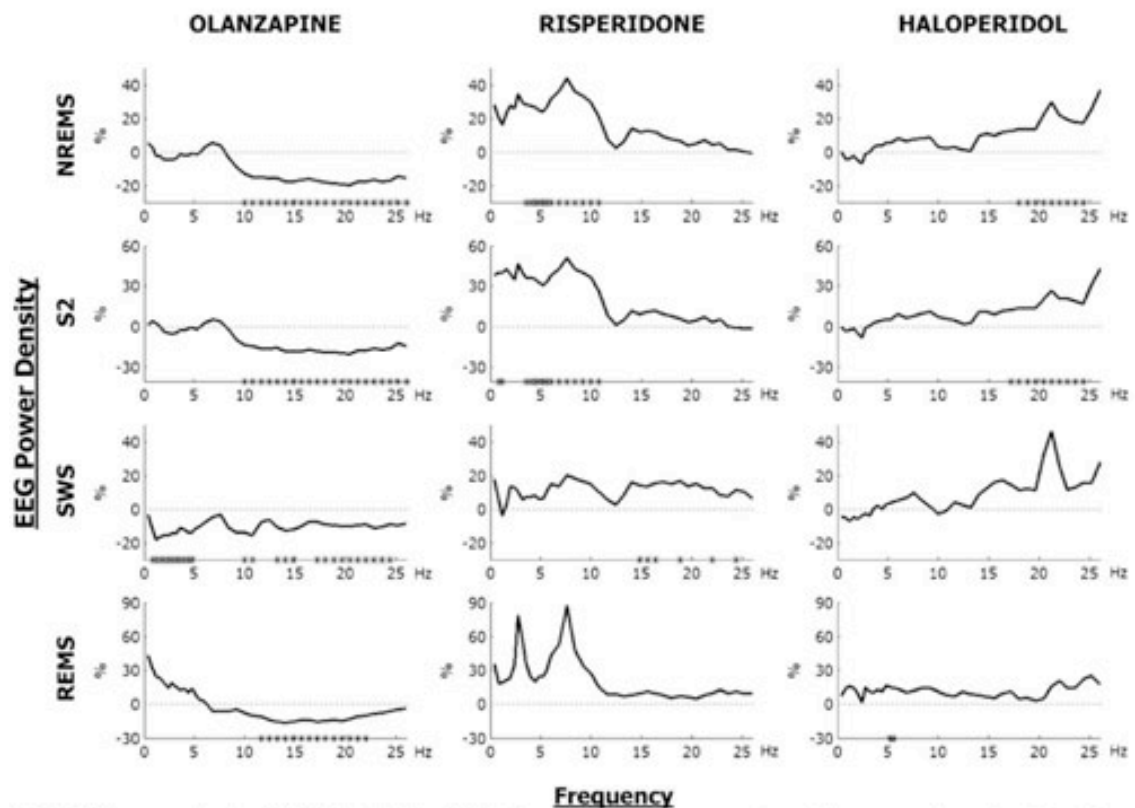


Fig. 1 EEG power density (C4A1-derivation) in NREM sleep (NREMS, stages 1, 2, 3 and 4), stage 2 (S2), slow wave sleep (SWS, stages 3 and 4) and REM sleep (REMS) after one single oral morning administration of olanzapine 5 mg, risperidone 1 mg and haloperidol 3 mg. For each frequency bin ($n=17$), means were

expressed as a percentage of the corresponding value after placebo (*horizontal dashed lines at 0%*). Asterisks at the bottom of the panels indicate frequency bins which differed significantly from placebo ($p < 0.05$, t tests for repeated measures)

the lack of significant differences in any PSG variables and subjective reports between the control night and the night with placebo indicate an adequate adaptation to the sleep laboratory conditions and guarantee the relevance of the analysis strategy selected, that is, the application of GLM directly to the raw data after each experimental intervention without any adjustment for baseline recordings.

Regarding PSG effects, olanzapine showed a consistent hypnotic effect by increasing TST and sleep efficiency and decreasing wake time. The reduced sleep latency onset, although not statistically significant, agreed with this pattern. Concerning sleep architecture, SWS and REM sleep were increased. Significant increases in the average duration of sleep cycles and in both NREM and REM periods, mainly in the former, were also obtained. Results on sleep initiation and maintenance measures, as well as on SWS, are in concordance with previous reports where olanzapine was found to improve sleep continuity and produce dose-related SWS increases in schizophrenic

(Salin-Pascual et al. 2004) and healthy volunteers (Sharpley et al. 2000; Lindberg et al. 2002). Olanzapine is a potent 5-HT_{2A/2C} antagonist, and studies in humans and animals have shown that 5-HT_{2A/2C} receptors, primarily 5-HT_{2C}, are involved in the regulation of SWS (Sharpley et al. 1994). Accordingly, it has been calculated that the 50% increase in SWS observed after olanzapine (5 mg) corresponds to a central occupancy of 5-HT_{2C} receptors of at least 70%. On the other hand, the blockade of histamine-H₁ receptors and α_1 adrenoreceptors has also been proposed as a possible mechanism underlying some of the hypnotic effects of olanzapine such as the decrease in sleep latency onset (Sharpley et al. 2000) and wake time (Sharpley et al. 2000; Lindberg et al. 2002; Salin-Pascual et al. 2004). Regarding the results on REM variables, in the present study we observed an increase in REM sleep and a non-significant reduction in REM latency, in clear contrast with the decrease in REM percentage commonly reported after olanzapine intake (Sharpley et al. 2000; Lindberg et al.

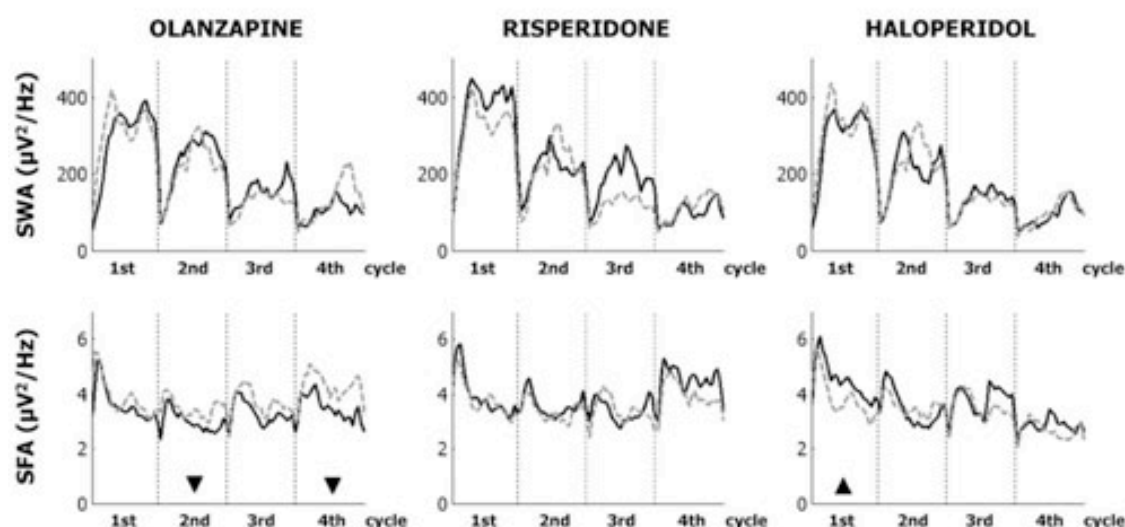


Fig. 2 Time course of EEG slow-wave activity (SWA, 0.5–4.0 Hz range; C4A1-derivation) and spindle frequency activity (SFA, 11.0–15.0 Hz range; C4A1-derivation), together with delta EOG activity (DEA, 0.5–4.0 Hz range; EOG-derivation) plotted after one single oral morning administration of olanzapine 5 mg, risperidone 1 mg and haloperidol 3 mg (continuous curves) against placebo (dashed curves).

For each subject, individual NREMS episodes were subdivided into 20 equal time binds. Data were averaged across subjects ($n=17$) and plotted against the mean timing of NREMS. Dashed vertical lines delimit NREMS episodes. Triangles indicate NREMS episodes with a significant AUC effect (t test for repeated measures); orientation of the triangles indicates the direction of deviation from placebo

2002). However, data on REM are far from consistent. In these earlier studies significances were obtained only at doses of 10 mg(not at 5 mg) (Sharpley et al. 2000) and only in the subgroup of female participants (Lindberg et al. 2002). In addition, medication was received in the evening in both studies in contrast with the current investigation where treatment was administered in the morning. This different time of drug administration could explain these conflicting results. The reduction of REM sleep produced by the antagonistic effects of olanzapine at muscarinic cholinergic receptors is usually observed when data are obtained soon after drug administration. Nevertheless, this effect could disappear over time. Thus, the enhanced REM

sleep obtained in our study could represent a kind of rebound response to the previous acute daytime REM mechanism disruption.

Risperidone showed increases in stage 2 and decreases in REM sleep with a tendency to increase REM latency. In addition, wake time in minutes and the number of stage shifts were significantly reduced. These results agreed with the only previous paper dealing with risperidone and healthy volunteers (but given 90 min before retiring to sleep; Sharpley et al. 2003). The pharmacological mechanism by which risperidone might lower REM sleep is not clear, but a similar effect has been noted in the rat (Dugovic et al. 1989). Risperidone does have some antagonist activity

Table 3 Subjective sleep and awakening quality measures after one single oral morning administration of olanzapine 5 mg, risperidone 1mg and haloperidol 3 mg (mean±SEM; $n=17$)

	Control	Placebo	Olanzapine	Risperidone	Haloperidol	Manova	Paired t test
SSA-T	31.2±5.54	34.3±7.2	33.1±5.8	37.3±9.1	33.3±5.3	0.347	
SSA-1	11.7±4.50	14.5±4.3	11.9±2.02	15.1±4.07	13.6±3.1	0.029	O vs R**; O vs H*;
SSA-2	14.1±3.55	14.4±3.2	15.4±3.9	16.2±4.5	14.2±3.4	0.169	O vs P+
SSA-3	5.4±0.77	5.3±0.7	5.9±0.9	6.0±2.02	5.4±0.65	0.229	
SSL (min)	25.7±35.92	33.1±45.9	11.8±14.03	25.7±37.02	13.7±13.9	0.146	
SSE (min)	89.6±9.27	85.9±16.3	91.8±9.9	86.3±12.2	91.05±9.1	0.147	

SSA Self-assessment scale for sleep and awakening quality, T total score, 1=subjective sleep quality, 2=subjective awakening quality, 3=somatic complains, SSL subjective sleep latency, SSE subjective sleep efficiency, P placebo, O olanzapine, R risperidone, H haloperidol

+ $p<0.10$

* $p<0.05$

** $p<0.01$

at noradrenergic α_2 -adrenoceptors (Janssen et al. 1988) and α_2 -adrenoceptor antagonists such as idazoxan decrease REM sleep, perhaps through facilitating epinephrine and 5-HT neurotransmission (Nicholson and Pascoe 1991). Risperidone presents a potent 5-HT_{2A} and a relatively potent 5-HT_{2C} receptor antagonist activity at low doses. Therefore, the increase in stage 2 and not in SWS obtained in our study would agree with the implication of the 5-HT₂ receptors subtypes in SWS, already mentioned above in this paper.

The treatment that produced fewest changes in PSG variables was haloperidol. We observed only a tendency towards an increase in sleep efficiency and stage 2 duration and towards a decrease in wake time. Kinetics and dynamic reasons could be at the base of these scanty results. Haloperidol (18 h) has a considerably shorter half-life than olanzapine (33 h) and risperidone (parent compound, 3 h but an active metabolite -9-hydroxyrisperidone-, 27 h). Thus there were clear differences in the availability of the active compounds when the measures were obtained. Moreover, like all typical antipsychotics, haloperidol is devoid of any direct activity on serotonergic receptors. In addition, it is the highest selective dopamine D₂ blocker, and it has no antimuscarinic or antihistaminic binding potential. In contrast with the well-known role of other neurotransmitter systems in sleep physiology, the consequences of specific dopamine manipulations are far from being clearly understood (Pace-Schott and Hobson 2002). However, the results obtained fall in the line with the global improvement in sleep continuity generally described after antipsychotic administration in schizophrenic patients (Stephan et al. 1991; Maixner et al. 1998). Specifically, patients under haloperidol treatment usually show increases in TST and sleep efficiency but no change, or even a decrease, in the amount of SWS (Itil et al. 1970).

Regarding spectral evaluations, in all-night analysis, olanzapine showed a markedly depressed power density in the high-frequency range during all sleep stages and an additional reduction in the low frequency band in SWS. However, dynamics of SWA did not reach statistically significant differences, whereas a significant reduction on the SFA in the second and fourth NREMS episodes was obtained. These results are quite different from those obtained after a higher (10 mg) evening (18.0 h) dose of olanzapine, which consisted of only significant increases in theta power mainly in female healthy subjects (Lindberg et al. 2002). Furthermore, they are also different from results after more selective 5-HT₂ receptor antagonists, which in addition to a decrease in sigma activity also induced an increase in delta activity, both in rats (Bobérly et al. 1988) and in humans (Dijk et al. 1989; Viola et al. 2002). It is interesting to note that changes in wake EEG after an acute

drug intake in healthy volunteers mainly consisted of increases in delta and theta, but decreases in alpha and beta activities (Saletu et al. 1987b). In the current investigation, risperidone mainly presented increases in the 3.6–10.8 Hz frequency band in all night NREM spectrum without significant changes in SWA and SFA dynamics, and haloperidol induced significant power increases in the high frequency range in NREM all spectrum together with a significant increase of SFA circumscribed to the first NREM episode. We are unable to compare our results as to our knowledge no other studies have yet been carried out evaluating risperidone or haloperidol effects on spectral sleep EEG analysis. Interestingly, the obtained changes resembled those observed in wake EEG in healthy volunteers after single oral doses of these compounds, risperidone inducing increases on delta, theta and alpha-1 activities and haloperidol increases on alpha and beta activities (Saletu et al. 1987b; Lee et al. 1999). Analysis of eye-movement density during stage REM, represented by the dynamics of slow activity in EOG channels during REM sleep, revealed no changes after any of the treatments. Data on neuroleptic effects on phasic REM variables are scarce and inconclusive (Salin-Pascual et al. 1999).

When subjective sleep perception was taken into account, subjective sleep quality was the only variable which presented statistically significant results, showing a clear improvement after olanzapine. Subjective sleep quality seems to be related to the perceptions of ease of initiation and maintenance of sleep but unrelated to the ease of awakening (Åkerstedt et al. 1994a,b). From a physiological point of view, subjective sleep quality has been related with the amount of SWS (Åkerstedt et al. 1997). The results reported by the participants are therefore in good agreement with these previous described PSG findings.

In summary, antipsychotics showed clear sleep changes in healthy subjects after single morning oral doses, supporting non-biased pharmacological effects when administered even 15 h before going to bed. This finding demonstrates that sleep mechanisms are very sensitive to the sedation reportedly observed after intake of most antipsychotics. Effects varied as neurochemical profiles of the compounds were different. The impact on night sleep should be expected not only when these drugs are prescribed at night-time but even if they are taken in a morning administration schedule.

Acknowledgment The authors thank the staff at the Centre d'Investigació de Medicaments de l'Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, in particular, Liria da Graça for the technical assistance during data collection, and Angeles Funes for typing the manuscript. Supported by a grant from the Fundació La Marató de TV3 (Catalonia Television, Spain).

References

- Aeschbach D, Borbély AA (1993) All night dynamics of the human sleep EEG. *J Sleep Res* 2:70–81
- Åkerstedt T, Hume K, Minors D, Waterhouse J (1994a) The meaning of good sleep: a longitudinal study of polysomnography and subjective sleep quality. *J Sleep Res* 3:152–158
- Åkerstedt T, Hume K, Minors D, Waterhouse J (1994b) The subjective meaning of good sleep—an intraindividual approach using the Karolinska Sleep Diary. *Percept Mot Skills* 79:287–296
- Åkerstedt T, Hume K, Minors D, Waterhouse J (1997) Good sleep—its timing and physiological characteristics. *J Sleep Res* 6:221–229
- Barbano MJ, Grasa E, Morte A, Romero S, Clos S, Giménez S, Benito LL, Yrityia M, Pérez V, Anderer P (2004) Topographic EEG changes after single oral doses of atypical neuroleptics with different pharmacological profile in healthy young subjects (abstract). 13th meeting of the IPEG (International Pharmacology-EEG Society), Amberes, Belgium (8–12 September)
- Borbély AA, Mattmann P, Loeferle M, Strauch I, Lehmann D (1983) Effect of benzodiazepine hypnotics on all-night sleep EEG spectra. *Hum Neurobiol* 4:189–194
- Borbély AA, Trachsel L, Tobler I (1988) Effect of ritanserin on sleep stages and sleep EEG in the rat. *Eur J Pharmacol* 156:275–278
- Dijk DJ, Beersma DGM, Daan S, Van den Hoofdakker RH (1989) Effects of seganserin, a 5HT₂ antagonist, and temazepam on human sleep stages and EEG power spectra. *Eur J Pharmacol* 171:207–218
- Dugovic C, Wauquier A, Janssen PAJ (1989) Differential effects of the new antipsychotic risperidone on sleep and wakefulness in the rat. *Neuropharmacology* 28:1431–1433
- Feinberg I, Floyd TC (1979) Systematic trends across the night in human sleep cycles. *Psychophysiology* 16:282–291
- Itil TM, Gannon P, Hsu W, Klingenberg H (1970) Digital computer analyzed sleep and resting EEG during haloperidol treatment. *Am J Psychiatry* 127:462–471
- Janssen P, Niemegeers CJ, Awouters F, Schellekens KH, Megens AA, Meert TF (1988) Pharmacology of risperidone (R64766), a new antipsychotic with serotonin-5₂ and dopamine-D₂ antagonistic properties. *J Pharmacol Exp Ther* 244:685–693
- Lee DY, Lee KU, Kwon JS, Jang IJ, Cho MJ, Shin SG, Woo JI (1999) Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of risperidone effects on electroencephalography in healthy volunteers. *Psychopharmacology* 144:272–278
- Lindberg N, Virkkunen M, Tani P, Appelberg B, Virkkala J, Rimón R, Porkka-Heiskanen T (2002) Effect of a single-dose of olanzapine on sleep in healthy females and males. *Int Clin Psychopharmacol* 17:177–184
- Maixner S, Tandon R, Eiser A, Taylor S, DeQuardo JR, Shipley J (1998) Effects of antipsychotic treatment on polysomnographic measures in schizophrenia: a replication and extension. *Am J Psychiatry* 155:1600–1602
- Miyamoto S, Duncan GE, Goff DC, Lieberman JA (2002) Therapeutics of schizophrenia. In: Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff C (eds) *American College of Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, pp 775–807
- Nicholson AN, Pascoe PA (1991) Presynaptic alpha 2-adrenoceptor function and sleep in man: studies with clonidine and idazoxan. *Neuropharmacology* 30:367–372
- Pace-Schott EF, Hobson JA (2002) Basic mechanisms of sleep: new evidence on the neuroanatomy and neuromodulation of the NREM-REM cycle. In: Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff C (eds) *American College of Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, pp 1859–1877
- Rechtschaffen A, Kales A (1968) *A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects*. U.S. Government Printing Office, Washington, DC
- Saletu B, Wessely P, Grünberger J, Schultes M (1987a). Erste klinische Erfahrungen mit einem neuen schlafanstossenden Benzodiazepin Cinolazepam mittels eines Selbstbeurteilungsbogens für Schlaf- und Aufwachqualität (SSA). *Neuropsychiatrie* 1:169–176
- Saletu B, Anderer P, Kinsperger K, Grünberger J (1987b). Topographic brain mapping of EEG in neuropsychopharmacology—Part II. Clinical applications (pharmacology-EEG imaging). *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 9:385–408
- Salin-Pascual RJ, Herrera-Estrella M, Galicia-Polo L, Rosas-Launabagaio M (1999) Olanzapine acute administration in schizophrenic patients increases delta sleep and sleep efficiency. *Biol Psychiatry* 46:141–143
- Salin-Pascual RJ, Herrera-Estrella M, Galicia-Polo L, Rosas M, Brunner E (2004) Low delta sleep predicted a good clinical response to olanzapine administration in schizophrenic patients. *Rev Invest Clin* 56:345–350
- Schlösser R, Röscher J, Rossbach W, Benkert O (1998) Conventional and spectral power analysis of all-night sleep EEG after subchronic treatment with paroxetine in healthy male volunteers. *Eur Neuropsychopharmacol* 8:273–278
- Sharpley AL, Elliott JM, Attenburrow MJ, Cowen PJ (1994) Slow wave sleep in humans: Role of 5-HT_{2A} and 5HT_{2C} receptors. *Neuropharmacology* 33:467–471
- Sharpley AL, Vassallo CM, Cowen PJ (2000) Olanzapine increases slow-wave sleep: evidence for blockade of central 5-HT_{2c} receptors in vivo. *Biol Psychiatry* 47:468–470
- Sharpley AL, Bhagwagar Z, Hafizi S, Whale WR, Gijsman HJ, Cowen PJ (2003) Risperidone augmentation decreases rapid eye movement sleep and decreases wake in treatment-resistant depressed patients. *J Clin Psychiatry* 64:192–196
- Stephan FT, Tandon R, Shipley JE, Eiser AS (1991) Effect of neuroleptic treatment on polysomnographic measures in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 30:904–912
- Tandon R (1998) Antipsychotic agents. In: Klein DF, Rowland LP (eds) *Current psychotherapeutic drugs*. Brunner/Mazel Publishers, New York, pp 120–154
- Viola AU, Brandenberger G, Toussaint M, Bouhours P, Macher JP, Luthringer R (2002) Ritanserin, a serotonin-2 receptor antagonist, improves ultradian sleep rhythmicity in young poor sleepers. *Clin Neurophysiol* 113:429–434
- Warrington SJ (1997) Ethical aspects of research in healthy volunteers. In: O'Grady J, Joubert PH (eds) *Handbook of phase I/II clinical drug trials*. CRS Press, Boca Raton, pp 103–110
- Worrel JA, Marken PA, Beckman SE, Ruether VL (2000) Atypical antipsychotic agents: a critical review. *Am J Health—Syst Pharm* 57:238–255

Waking and sleep EEG variables as human sleep homeostatic process biomarkers after drug administration

Sandra Giménez, Sergio Romero, Miguel Angel Mañanas, Manuel-José Barbanoj.

***Neuropsychobiology* 2011; 63:252-260.**

Waking and Sleep Electroencephalogram Variables as Human Sleep Homeostatic Process Biomarkers after Drug Administration

Sandra Giménez^{a,c} Sergio Romero^{d,e} Miguel Angel Mañanas^{d,e}
Manuel-José Barbanoj^{a-c,f,1}

^aCentre d'Investigació de Medicaments, Institut d'Investigacions Biomèdiques Sant Pau (IIB-Sant Pau),

^bDepartament de Farmacologia i Terapèutica, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, ^cCentro de Investigación Biomédica de Salud Mental, CIBERSAM, Madrid, ^dDepartment of Automatic Control (ESAIL), Biomedical Engineering Research Center (CREB), Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), ^eCIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), and ^fServei de Farmacologia Clínica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP), Barcelona, Spain

Key Words

EEG · Spectral analysis · Biomarkers · Sleep propensity · Drug intake · Olanzapine

Abstract

Background/Aims: The correlation between theta activity during wakefulness and slow-wave activity (SWA) during sleep observed after sleep deprivation suggests such patterns can be used as electroencephalogram (EEG) biomarkers of the sleep homeostasis process. Since these EEG components would be very useful objective measures to assess CNS drug effects, we investigated whether the relationship between sleep homeostatic EEG biomarkers could be reproduced after an experimental pharmacological intervention. **Methods:** Seventeen healthy volunteers took part in a phase I randomized, double-blind, crossover design study. To increase sleep propensity, all participants received a single

morning oral dose of olanzapine (5 mg) and placebo. Quantitative EEG analysis was done by power spectra calculations: theta activity (3.5–7.5 Hz) during wakefulness and SWA (0.5–4.0 Hz) during sleep. The relationship between the 2 EEG parameters was assessed by correlating the rise rate (percent/hour) of theta activity in wakefulness and the increase (percent) of SWA in the first non-REM sleep episode. **Results:** Following olanzapine administration we observed increases in theta activity during wakefulness, and increases in total sleep time, sleep efficiency and slow-wave sleep time during sleep. However, a weak and unreliable correlation was observed between the increases in theta activity and changes in sleep SWA. **Conclusions:** From these results, we cannot affirm that these waking and sleep EEG variables behave as biomarkers of human sleep homeostasis after drug administration. It is possible that these EEG biomarkers reflect different physiological mechanisms if they are assessed during drug CNS effects.

Copyright © 2011 S. Karger AG, Basel

¹ Prof. M.-J. Barbanoj passed away last December. We deeply regret the loss of a brilliant scientist and a good friend.

This study was presented in abstract form at the 61st Annual Meeting of the Spanish Neurological Society, November 17–21, 2009, Barcelona, Spain.

KARGER

Fax +41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2011 S. Karger AG, Basel
0302-282X/11/0634-0252\$38.00/0

Accessible online at:
www.karger.com/tps

Dr. Sandra Giménez
Institut de Recerca, CIM-Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau
Av. Sant Antoni M^o Claret, 167
ES-08025 Barcelona (Spain)
Tel. +34 93 553 78 55, Fax +34 93 553 78 64, E-Mail mbarbanoj@santpau.cat

Introduction

Sleep and wakefulness are the 2 main states of consciousness, alternating in a daily pattern in most animal species. Both states can be defined by behavioral and electrophysiological criteria [1]. Sleep-wake regulation in humans is represented in Borbély's 2-process model [2] as the result of the interaction of homeostatic (process S) and circadian (process C) factors. According to this model, the level of the sleep-wake-dependent process S rises during waking and declines during sleep, whereas the independent process C, generated in the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus, determines the onset and duration of the sleep episode. During sleep, an additional ultradian process regulates the alternation of nonrapid eye movement (non-REM) sleep and rapid eye movement (REM) sleep stages [3].

The electrophysiological correlation of sleep drive (process S) has been identified as the changes in electroencephalogram (EEG) slow-wave activity (SWA), an EEG spectral analytic index of slow frequencies in the 0.5- to 4.5-Hz range [4]. Diverse sleep deprivation and nap protocol studies have shown that the enhanced or decreased (respectively) level of SWA in the first non-REM sleep episode is a function of the duration of the prior waking [5-7]. The SWA decrease during sleep can be modeled by a negative exponential function across sleep cycles and the SWA increase during wakefulness by a saturating exponential function [5]. The theta/low-frequency alpha (5.25-9 Hz) activity constitutes the waking EEG component of the sleep homeostatic process. It rises during prolonged wakefulness [8-10] and correlates significantly with fatigue and sleepiness [11, 12]. In a recent study performed in healthy volunteers after 40 h of sleep deprivation, Finelli et al. [13] observed a positive correlation between the rise rate of theta activity during wakefulness and the increase in SWA in the first non-REM sleep episode.

These same authors suggested that monitoring a sleep process in the waking EEG may have interesting practical implications in fields such as central nervous system (CNS) pharmacology. For instance, extensive analysis of unwanted CNS drug effects includes nocturnal polysomnographic recordings to rule out any disturbing effects of the compounds on sleep. It is important to consider the entire 24-hour day/night cycle to accurately assess the impact of a drug intervention on human behavior. Evaluating a drug's effects on sleep can reveal cues about its impact during daytime performance and vice versa [14]. If EEG homeostatic process biomarkers can be used as

objective measures of sleepiness or fatigue during pharmacological treatment, they may provide additional tools to assess side effects regarding vigilance level or psychomotor performance, thereby helping to prevent sleep-related accidents. However, as far as we are aware, no studies have yet been performed to correlate the 2 homeostatic process EEG variables after drug administration.

The aim of the current manuscript was to investigate whether the relationship between EEG biomarkers of the sleep homeostasis process during wake and sleep states, observed after sleep deprivation studies, could be reproduced after a pharmacological intervention. In order to assess this objective, data coming from the study of Giménez et al. [15] were used. In this study significant hypnotic effects of olanzapine oral morning administration were observed.

Methods

Study Population

Seventeen healthy young adult volunteers (9 males and 8 females) were selected from the pool of volunteers at the Pharmacology Research Unit (Research Institute), Santa Creu i Sant Pau Hospital, Barcelona, Spain. Their mean age was 26.9 years (range = 21-37), the mean weight was 64.3 kg (range = 51.0-86.5), and the mean height was 167.5 cm (range = 158-186). Medical interviews and examinations, clinical chemistry, hematology and urinalysis tests were performed within 21 days prior to study initiation. The exclusion criteria included any history of medical or psychiatric illness, and all participants were screened for sleep disturbances (Pittsburg Sleep Quality Index <5). The first sleep laboratory night assessed, in addition to familiarization purposes, allowed us to objectively exclude any undiagnosed sleep disorder (apnea-hypopnea index <5/h; periodic limb movement index <5/h). Prestudy examinations also included drug screening, serological testing (for hepatitis B and C and HIV) and serum pregnancy testing for women. The subjects' habitual alcohol, coffee and cigarette consumptions were insufficient to provoke withdrawal effects when the substances were not allowed in the 24 h before and after each study day, as was required in this study (≤ 39 g absolute alcohol/day, ≤ 100 mg caffeine/day, ≤ 5 cigarettes/day). No strenuous physical exercise or naps were allowed in the 24 h prior to experimental sessions or in the following 24 h. The participants were requested not to take any medication during the study period without the investigator's previous knowledge and were asked to keep regular sleep-wake habits in the month before the study and during the study itself. This was verified from the participants' sleep diaries.

The trial was approved by the research ethics committee at the study center and the Spanish Drug Agency, and was conducted following the principles stated in the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines. All volunteers gave written informed consent prior to the start of the trial and were paid for their participation.

Study Design

The study was conducted according to a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover design. Olanzapine (5 mg) and placebo were administered orally in the morning (8 a.m.) under fasting conditions. There was a washout window of at least 1 week between the experimental periods. After drug intake, the volunteers remained in the laboratory for the whole day and waking EEG recordings were assessed at different time points: before drug administration (baseline recording) and 12 times (at 1-hour intervals) after drug intake. The participants were closely monitored and were not allowed to nap. Each experimental period included a baseline night, a morning drug administration (EEG recordings) and a following night in the sleep laboratory. In addition, the volunteers spent 2 more nights in the sleep laboratory. The first night was considered an adaptation night to familiarize the volunteers with the laboratory and recording procedures, while the second was considered a control night and no medication was given. All volunteers performed these 2 nights within 3 weeks prior to the study.

Waking EEG recordings were undertaken in a quiet and dimly lit room with the volunteers seated in a reclining chair. The experimenter remained outside the room during the EEG recordings. The volunteers received small snacks at 2-hourly intervals to avoid a decrease in vigilance induced by heavy meals. Sleep recordings were performed in individual, sound-attenuated, temperature-regulated rooms and the volunteers were supervised by qualified technical staff. The total time in bed was fixed at 8 h. The lights were turned off around 11.00 p.m. and turned on around 7 a.m. the following morning.

Neurophysiological Recordings – Electroencephalographic

Data Acquisition

Waking EEG

EEG recordings were performed following the International Pharmacology-EEG Group recommendations for human Pharmacology-EEG studies [16]. A 3-min EEG with eyes closed was performed. We recorded, by means of Neuroscan SYNAmps amplifier, vertical and horizontal electro-oculogram signals, and 19 EEG channels: Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F4, F8, T3, C3, Cz, C4, T4, T5, P3, Pz, P4, T6, O1 and O2 (according to the international 10/20 system). All EEG channels were referenced to average mastoid. electro-oculogram and EEG signals were recorded using high-pass (0.3 Hz) and low-pass (45 Hz) filters, with a sampling frequency of 100 Hz.

Sleep EEG

Two computed PSG systems were used: Coherence 32E-DeltaMed and Sleep Lab-Aequitron Medical Recordings. The same system was used for all recordings in each volunteer. The recordings consisted of 6 EEG channels [Fp1, Fp2, C3, C4, O1, O2 referenced to average mastoid (A1–A2), according to the international 10-20 system], 2 electro-oculogram leads and 1 chin electromyographic channel (EMG). Four channels were included to monitor the respiratory function, 1 for airflow signal, 2 channels to record rib cage and abdominal motion, and a fourth for oxygen saturation. Heart rate variability was controlled by means of an ECG channel. Finally, limb movements were monitored using 2 channels with linked electrodes on both right and left anterior tibialis. The EEG signal was high-pass (0.3 Hz) and low-pass (35 Hz) filtered before being converted from analogue to digital, with a sampling frequency of 256 Hz.

Calculation of Power Spectra and Artifact Exclusion

Power spectra of 5-second artifact-free epochs, weighted by a Hanning window, were computed using the Fast Fourier Transform, resulting in a frequency resolution of 0.2 Hz.

Waking EEG

A 2-step artifact processing procedure was used. It included ocular artifact minimization based on blind source separation methods, as described by Romero et al. [17], and automatic artifact rejection based on a time and a frequency domain approach as described by Anderer et al. [18]. Subsequently, the validity of the artifact processing procedure was visually inspected. Spectral analysis to data referenced to average mastoid was performed. Spectral density curves for all artifact-free EEG epochs were averaged for a particular time point. The waking EEG target variable was quantified from these mean spectral curves, containing data from 1.3 to 30 Hz, that is, the absolute power of theta band (3.7–7.5 Hz). Topographic maps were computed by cubic interpolation of the values of the 4 nearest electrodes.

Sleep EEG

The sleep stages were visually scored for 30-second epochs (C3A2 derivation) according to the traditional standard Rechtschaffen and Kales criteria [19] using the View and Rate (Cdatentechnik GbR © 1995–1999 3.02 version) program. Scoring was performed by 2 independent sleep technicians. Discrepancies were solved by a third expert from the same laboratory. Each scorer was blinded to the other raters' analysis and medication status. Artifact epochs containing either saturation or muscle activity were automatically identified and eliminated. Spectral analysis was performed and matched with the sleep scores. Dynamics of SWA (0.5–4.0 Hz) were computed throughout the whole night. A moving average estimation of 5 min duration was computed to smooth the signal throughout the night. Consecutive non-REM-REM sleep cycles were defined according to modified criteria of Feinberg and Floyd [20]. Non-REM sleep episodes starting with stage 2 and containing at least 15 min of stages 2, 3 and 4 were succeeded by REM sleep episodes of at least 5 min duration. For the completion of the first cycle, no minimal criterion for the REM sleep duration was applied. To compensate for the individual differences in the occurrence and duration of the non-REM-REM sleep cycles, a method derived from Aeschbach and Borbély [21] was used. For SWA, each non-REM sleep period of unequal length was subdivided into 24 equal parts and each REM sleep period into 4 equal parts. They were then averaged across subjects. The sleep EEG target variable was SWA dynamic activity and it was evaluated on the raw data by calculating areas under the curves in each cycle.

Statistics

During waking, drug intake effects were assessed by paired 2-tailed *t* tests to changes of placebo and olanzapine administration at the different evaluated time points (fig. 1), as suggested in the International Pharmacology-EEG Group guideline on statistical design and analysis of pharmacodynamic trials [16]. The temporal evolution of theta power was modeled by linear least-squares regression (fig. 2), taking as dependent variable: (a) the difference value between olanzapine and placebo obtained at C3 expressed as relative to the mean after placebo intake (following the usual approach in the assessment of drug effects on EEG); (b) the value

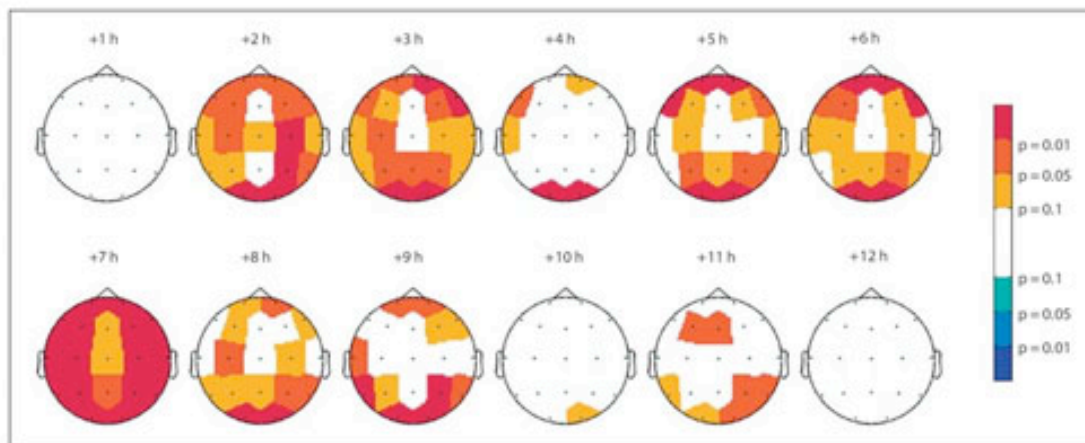


Fig. 1. Significance probability maps showing differences between olanzapine-induced and placebo-induced changes in absolute theta power (3.5–7.5 Hz) at the different time points after administration versus baseline values (n = 17). The vertex view shows the nose at the top, the left ear to the left and the right ear to the right. Electrode positions are indicated by black dots. The 7-color scale represents statistical differences based on p values. Increases and decreases are depicted as hot and cold colors, respectively.

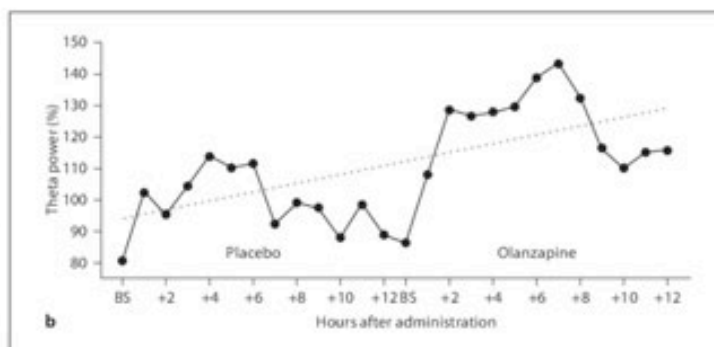
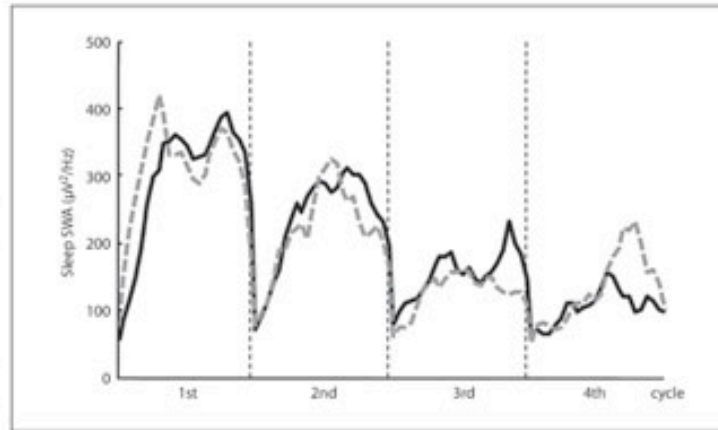


Fig. 2. Time course of absolute theta power (3.5–7.5 Hz, at C3): **a** as difference value between olanzapine and placebo (following the usual approach in the assessment of drug effects on EEG), and **b** as values obtained during the day after placebo and the day after olanzapine 5 mg administration (following the approach undertaken in Finelli et al. [13]). Means, n = 17, are plotted relative to the mean after placebo intake. In **b**, a linear least-squares regression was fitted to theta power (rise rate = 1.42%/h, intercept = 96%, p < 0.001). The dotted trace represents the linear model that fits the data.

Fig. 3. Time course of EEG SWA (0.5- to 4.0-Hz range; C4A1 derivation) plotted after a single oral morning administration of olanzapine 5 mg (continuous line) and after placebo (dashed line). For each subject, individual non-REM sleep episodes were subdivided into 24 equal time bins. Data were averaged across subjects ($n = 17$) and plotted against the mean timing of non-REM sleep. Dashed vertical lines delimit non-REM sleep episodes.



obtained at C3 expressed as relative to the mean after placebo intake (following the approach undertaken in Finelli et al. [13]). Effects on sleep variables (table 1) and SWA (fig. 3) were determined with paired 2-tailed *t* tests. Relationships between homeostatic markers of waking EEG (rise rate of theta power) and sleep EEG (considering the changes of both SWA in the first non-REM sleep episode and SWS duration after drug administration) were modeled by linear least-squares regression (fig. 4a, b). Statistical significance was set at a probability level of 0.05 or smaller. SPSS-WIN version 6.1 was utilized.

Results

Waking EEG

The effects of olanzapine 5 mg on theta activity are shown in figure 1. The absolute power of theta activity (3.5–7.5 Hz) started to increase significantly at 2 h, reaching peak effects at 7 h and remaining significant until 11 h after administration.

The waking homeostatic EEG component was assessed by computing the rising slope of absolute theta power activity after drug intake. All volunteers presented an enhanced power in the theta band during the day after drug administration. Both available time courses of theta activity, obtained after placebo and olanzapine 5 mg, were considered in the evaluation. Two approaches were applied. In order to utilize the usual procedure to assess drug effects on EEG, the waking EEG homeostatic component after olanzapine intervention was assessed by means of the difference in theta power (drug – placebo). In order to utilize an analogous analysis to that employed in the sleep deprivation design in

Table 1. Sleep variables derived from visual scoring after a single oral morning administration of olanzapine 5 mg ($n = 17$)

	Placebo night	Olanzapine night	p value
Total sleep period, min	462.1 ± 29.0	467.9 ± 10.5	
Total sleep time, min	422.5 ± 59.6	461.6 ± 13.3	<0.01
Sleep efficiency, %	88.2 ± 12.4	96.6 ± 2.6	<0.01
Latency to stage 1, min	13.5 ± 27.4	5.3 ± 6.1	
Latency to stage 2, min	16.4 ± 28.7	9.9 ± 8.1	
Latency to SWS, min	18.7 ± 20.0	21.2 ± 15.4	
REM latency, min	83.8 ± 31.2	66.6 ± 27.8	
Awake, min	39.5 ± 49.3	6.2 ± 8.2	<0.01
Stage 1, min	18.4 ± 10.5	13.7 ± 7.8	<0.05
Stage 2, min	220.1 ± 43.1	227.7 ± 45.3	
SWS, min	89.3 ± 28.5	113.2 ± 43.7	<0.05
REM, min	90.8 ± 33.4	103.7 ± 19.0	<0.10

Figures are means ± SD.

which a first 24-hour 'normal waking' period was followed by a posterior 16-hour 'sleep-deprived' period [13], the waking EEG homeostatic component after olanzapine intervention was assessed by concatenating theta activity 12-hour time courses after placebo and after the drug. Figure 2a shows the average time course of drug-induced differences in theta power (drug – placebo). An increase pursued by a decrease was evidenced following the physiologically occurring time course of drug concentration changes in the body. In addition, a second maximum was observed as a consequence of the

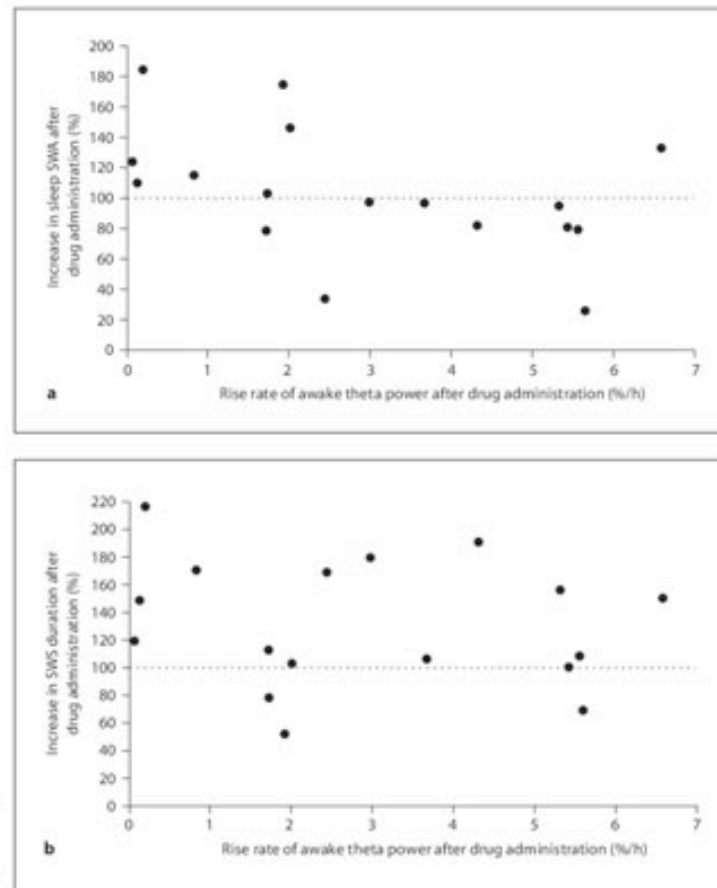


Fig. 4. Relationship between homeostatic marker of waking EEG and sleep EEG. The rise rate of theta power (3.5–7.5 Hz) in wake state is plotted as a function of: the change (percent) of SWA (power in the 0.5- to 4.0-Hz range) in the first non-REM sleep episode from placebo to olanzapine sleep (a) and the change (percent) of the SWS duration after the drug administration (b). The relationship was determined by linear least-squares regression (dotted line).

trough in the circadian modulation. Thus, no linear least-squares regression could be computed. Figure 2b shows the average time course of absolute power of the theta band during both conditions, placebo and olanzapine. The increase between both situations is clear but not strictly linear due to a circadian modulation. However, a linear function was fitted to the pooled data ($R^2 = 0.713$, $p < 0.001$). The rise rate of the linear component (1.42%/h) was significant (i.e. the asymptotic 95% confidence interval did not include 0).

The linear least-squares regression was computed not only for the average values but also for individual records. The rise rates varied between 0.05 and 6.59%/h (see fig. 4).

Thus, in order to assess the relationship between homeostatic markers of waking EEG (rise rate of theta power) and sleep EEG (changes of both SWA in the first non-REM sleep episode and SWS duration after drug administration), the results of the second approach (fig. 2b) were taken into account.

Sleep EEG

The sleep variables under olanzapine treatment showed a typical 'hypnotic' pattern which included statistically significant higher total sleep time, higher sleep efficiency and lower wake time. The sleep latencies were shorter but did not reach statistical significance. Olanzapine induced significant increases in SWS (sleep stage

3 + sleep stage 4; drug: 113.2 ± 43.7 , placebo: 89.3 ± 28.5 ; $p = 0.03$). On the other hand, significant decreases in stage 1 and REM sleep were also observed (table 1).

Figure 3 shows the SWA (0.5–0.4 Hz) dynamics throughout the night after placebo and olanzapine interventions. We observed higher values in non-REM sleep than in REM sleep. A declining trend was seen over consecutive non-REM sleep episodes. No significant changes were observed between olanzapine and placebo regarding the amount of SWA.

Correlation between Theta Activity during Waking and Slow-Wave Sleep

To examine the association between EEG variables during wakefulness and sleep, the rise rate of theta power during the wake state was plotted against the change of SWA in the first non-REM sleep episode after olanzapine intake (fig. 4a) and against the increase in SWS duration after the drug administration (fig. 4b). A weak and unreliable association was observed between these EEG variables when using SWA ($R^2 = 0.200$, $p = 0.071$) and no apparent association when using SWS ($R^2 = 0.028$, $p = 0.521$). The same occurred when the SWA data for the first 4 non-REM sleep episodes were used instead of only the first episode (data not shown).

Discussion

In our study, the rise rate of theta activity after morning drug administration, considered as a waking EEG homeostatic sleep propensity biomarker, weakly and unreliably correlates ($R^2 = 0.200$, $p = 0.071$) with the increase in SWA, known as a sleep EEG homeostatic sleep propensity biomarker. This result did not clearly reproduce prior data where, after sleep deprivation, a positive relevant correlation ($R^2 = 0.724$, $p = 0.015$) was seen between the rise rate of theta activity during waking and the increase in SWA in the first non-REM sleep episode [13]. In the study of Finelli et al. [13], sleep propensity in the waking EEG was modeled by computing the rising slope of theta power activity during a 40-hour waking episode, whereas in our study, it was modeled by computing the rising slope of theta power after a single oral morning administration of olanzapine 5 mg.

Olanzapine is an antipsychotic compound with potent antagonist activity at dopaminergic (D_1 , D_2 , D_3 , D_4), serotonergic (5-HT_{2A/C}), cholinergic (M_1) and histaminergic (H_1) receptors. It is generally associated with a high sedation profile, which tends to diminish as treatment is

pursued [22]. It increases tiredness and sleepiness and impairs performance during wakefulness [22, 23]. Pharmacological changes after olanzapine during wakefulness are characterized by increases in delta and theta but decreases in alpha-1, alpha-2 and beta activities [24, 25]. In the present study, consistent enhanced power was also observed in the theta band during the day after a morning dose of olanzapine intake. In addition, to apply an analogous analysis to the one employed in the sleep deprivation design [13], the waking EEG homeostatic component after olanzapine administration was assessed by calculating the rising slopes after concatenating theta activity 12-hour time courses after placebo and after the drug.

Drugs antagonizing the serotonergic 5-HT_{2A/C} receptor augment SWS [26]. The effects of olanzapine (5–10 mg) on human sleep have been documented in the literature, and increases in SWS are commonly reported [22, 27, 28]. It has also been found that morning doses of olanzapine produce a more striking SWS enhancement than evening administrations [29]. Significant increases in SWS were also elicited in our study [15]. However, since the main EEG biomarker of sleep homeostasis is the exponential decline of SWA but not the SWS [2], the time course of this measure was calculated. Nevertheless, it showed no significant findings. Although higher, no significant increase in the amount of SWA after olanzapine intake was obtained. Moreover, some volunteers showed increases while others showed decreases. Evidence in the literature suggests that although changes in stages 3 and 4 (SWS) generally correlate well with changes in EEG power density in the low-frequency range (SWA), there could be a dissociation between visual scoring and spectral analysis [9]. In particular, this difference is specially observed when analyzing sleep after drug administration [30]. In respect to olanzapine, the very few papers that have assessed the effects on sleep by means of traditional and spectral analysis showed increases in SWS without significant increments of the corresponding SWA [15, 28, 30, 31]. Both approaches (visual scoring and spectral analysis) were considered in this paper by means of the evaluation of the SWS duration and the area under the curve of the SWA activity in each non-REM-REM sleep cycle, respectively.

Nevertheless, to assess a plausible relationship between homeostatic EEG components during wake and sleep states, the waking rise rate of theta activity was plotted against the increase in both SWA in the first non-REM sleep cycle and SWS duration after olanzapine intake. A weak and unreliable correlation was obtained.

One may therefore wonder where all the awake theta has gone. Our results point out consistent data. The increase in theta power during wakefulness was clear after the administration of olanzapine. Although it fluctuated by a circadian process, this increase remained higher before bedtime after drug intake than the first EEG evaluation in the morning, which would have contributed to a higher sleep propensity, represented by the enhanced SWS duration.

The weak and unreliable relationship between the increase in theta activity and SWA, together with the dissociation between SWA and SWS, indicates that the association between waking and sleep homeostatic EEG biomarkers, commonly experimentally described after sleep deprivation designs, cannot be clearly reproduced under drug administration. In other words, these findings suggest that after pharmacological treatment, mechanisms of response may elicit EEG biomarkers that differ from those presently established in the field of sleep regulation. Sleep deprivation seems, therefore, to cause something different from the effects of olanzapine on alertness and sleep.

The increases in awake theta activity after neuroleptic intake have been considered as a hallmark of this group of compounds [32, 33]. Typical and atypical neuroleptics – including both those with low potency and high sedation, such as chlorpromazine, zotepine, amisulpride, zetidoline, clozapine or dapiprazole, and those with high potency and no sedation, such as haloperidol – clearly increase theta activity when they are administered to young healthy subjects and patients. Thus, this awake-EEG fingerprint after neuroleptic administration is possibly more the result of changes in functional connectivity among brain regions, particularly within largely dis-

tributed networks as the neurophysiological consequence of drug intake [34, 35], than the result of sleep propensity. EEG biomarkers after drug intake could become indicators of specific 'drug-driven' biological states.

Additional studies are needed to confirm or refute the possible different roles of EEG biomarkers after pharmacological intervention. To date, few pharmaco-EEG-sleep studies have used spectral analysis to evaluate the results. Even fewer have assessed drug sleep effects after a morning dosage considering the whole 24-hour day-night period as a continuum. Indeed, this could be the experimental strategy that would provide significant data to help in this discussion. Moreover, it would be greatly desirable to enlarge the scope of potential EEG biomarkers by evaluating drugs from different pharmacological groups with distinct sleep-wake behavioral consequences and different quantitative EEG effects. Availability of specific sleep homeostatic process biomarkers after drug administration would improve the accuracy of assessment of sleep-wake CNS drug side effects and help to control the impact of pharmacological treatment on daily performance.

Acknowledgements

The authors thank the staff at the Centre d'Investigació de Medicaments de l'Institut d'Investigacions Biomèdiques Sant Pau (IIB-Sant Pau), in particular Eva Grasa, Susana Clos and Liria da Graça for assistance during data collection, Angeles Funes for typing the manuscript and Carolyn Newey for revising the English. This study was supported by a grant from the Fundació La Marató de TV3 (Catalonia Television, Spain) and the Ministry of Science and Innovation from Spain (TEC2008-002754/TEC).

References

- Borbély AA, Achermann P: Homeostasis of human sleep and models of sleep regulation; in Kryger MH, Roth T, Dement WC (eds): Principles and Practice of Sleep Medicine. Philadelphia, WB Saunders Co, 2000, pp 377–390.
- Borbély AA: A two-process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol* 1982;1:195–204.
- Borbély AA, Achermann P: Concepts and models of sleep regulation: an overview. *J Sleep Res* 1992;1:63–79.
- Achermann P, Borbély AA: Mathematical models of sleep regulation. *Front Biosci* 2003; 8:683–693.
- Borbély AA, Baumann F, Brandeis D, Strauch I, Lehmann D: Sleep deprivation: effect on sleep stages and EEG power density in man. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1981;51:483–493.
- Dijk DJ, Beersma DGM, Daan S: EEG power density during nap sleep: reflection of an hourglass measuring the duration of prior wakefulness. *J Biol Rhythms* 1987;2:207–219.
- Werth E, Dijk DJ, Achermann P, Borbély AA: Dynamics of the sleep EEG after an early evening nap: experimental data and simulations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1996;271:501–510.
- Aeschbach D, Matthews JR, Postolache TT, Sher L, Giesen HA, Jackson MA, Wehr TA: EEG theta/low alpha activity (5.25–9.0 Hz) during wakefulness is higher in short sleepers than in long sleepers. *Sleep Res Online* 1999;2(suppl 1):514.
- Dijk DJ, Brunner DP, Beersma DG, Borbély AA: Electroencephalogram power density and slow wave sleep as a function of prior waking and circadian phase. *Sleep* 1990; 13(suppl 5):430–440.
- Cajochen C, Brunner DP, Krauchi K, Graw P, Wirz-Justice A: Power density in theta/alpha frequencies of the waking EEG progressively increases during sustained wakefulness. *Sleep* 1995;18(suppl 10):890–894.

- 11 Åkerstedt T, Torvall L, Gillberg M: Sleepiness in laboratory and field experiments; in Koella WP, Ruether E, Schulz H (eds): Proceedings of the 7th European Congress of Sleep Research 1984. Stuttgart, Fischer, 1985.
- 12 Torvall L, Åkerstedt T: Sleepiness on the job: continuously measured EEG changes in train drivers. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987;66:502-511.
- 13 Finelli LA, Baumann H, Borbély AA, Achermann P: Dual electroencephalogram markers of human sleep homeostasis: correlation between theta activity in waking and slow-wave activity in sleep. *Neuroscience* 2000; 101:523-529.
- 14 Barbanoj MJ, Morte A, Antonijoan RM, Garcia-Gea C, Romero S, Clos S, Giménez S, Jané F: Applications of EEG in humans: toxicology; in Drinkenburg HIM, Ruigt GSF, Jobert M (eds): Essentials and Applications of EEG Research in Preclinical and Clinical Pharmacology. Berlin, IPEG unipublish/Verlag für Studium & Praxis OHG, 2004, pp 255-275.
- 15 Giménez S, Clos S, Romero S, Grasa E, Morte A, Barbanoj MJ: Effects of olanzapine, risperidone and haloperidol on sleep after single oral morning dose in healthy volunteers. *Psychopharmacology* 2007;190:507-516.
- 16 Herrmann WM, Abt K, Coppola R, Etevenon ET, Gerber G, Fink M, Gevins AS, Hinrichs H, Irl TM, John ER, Kubicki St, Künkel H, Kugler J, Lehmann D, Petsche H, Rappelsberger P, Röhmel J, Saito M, Saletu B, Scheuler W, International Pharmacology-EEG group (IPEG): Recommendations for EEG and evoked potential mapping. *Neuropsychobiology* 1989;22:170-176.
- 17 Romero S, Mañanas MA, Barbanoj MJ: A comparative study of automatic techniques for ocular artifact reduction in spontaneous EEG signals based on clinical target variables: a simulation case. *Comput Biol Med* 2008;38:348-360.
- 18 Anderer P, Semlitsch H, Saletu B, Barbanoj MJ: Artifact processing in topographic mapping of electroencephalographic activity in neuropsychopharmacology. *Psychiatry Res* 1992;45:79-93.
- 19 Rechtschaffen A, Kales A: A Manual of Standardized Terminology: Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects. Los Angeles, ULCA Brain Information Service/Brain Research Institute, 1968.
- 20 Feinberg I, Floyd TC: Systematic trends across the night in human sleep cycles. *Psychophysiology* 1979;16:282-291.
- 21 Aeschbach D, Borbély AA: All night dynamics of the human sleep EEG. *J Sleep Res* 1993; 2:70-81.
- 22 Staner L, Granier LA, Vandenhende E, Macher JPR, Luthringer R: Repeated administration of olanzapine differentially affects slow wave sleep, sleep continuity and daytime sedation: a placebo-controlled study of morning versus evening dosing in healthy volunteers (abstract). *Eur Neuropsychopharmacol* 2002;12:S326.
- 23 Morrens M, Wezenberg E, Verkes RJ, Hulstijn W, Ruigt GSF, Sabbe BGC: Psychomotor and memory effects of haloperidol, olanzapine, and paroxetine in healthy subjects after short-term administration. *J Clin Psychopharmacol* 2007;27(suppl 1):15-22.
- 24 Barbanoj MJ, Grasa E, Morte A, Romero S, Clos S, Giménez S, Benito Il, Yritia M, Pérez V, Anderer P: Topographic EEG changes after single oral doses of atypical neuroleptics with different pharmacological profile in healthy young subjects. Proceedings of the 13th Meeting of the IPEG (International Pharmacology-EEG Society), Antwerp (abstract). *Acta Neurobiol Exp* 2004;64:511-545.
- 25 Hübl D, Kleinlogel H, Frolich L, Weinandi T, Maurer K, Holstein W, Czekalla J, Dierks T: Multilead quantitative electroencephalogram profile and cognitive evoked potentials (P300) in healthy subjects after a single dose of olanzapine. *Psychopharmacology* 2001; 158:281-288.
- 26 Sharpley AL, Elliott JM, Attenburrow MJ, Cowen PJ: Slow wave sleep in humans: role of 5-HTA and 5HT2C receptors. *Neuropharmacology* 1994;33:467-471.
- 27 Sharpley AL, Vassallo CM, Cowen PJ: Olanzapine increases slow-wave sleep: evidence for blockade of central 5-HT_{2c} receptors in vivo. *Biol Psychiatry* 2000;47:468-470.
- 28 Lindberg N, Virkkunen M, Tani P, Appelberg B, Virkkala J, Rimon R, Porkka-Heiskanen T: Effect of a single-dose of olanzapine on sleep in healthy females and males. *Int Clin Psychopharmacol* 2002;17:177-184.
- 29 Staner L, Haba J, Granier LA, Vandenhende E, Macher JP, Luthringer R: Comparison of the effects on sleep EEG of morning versus evening administration of olanzapine: a placebo-controlled study in healthy volunteers (abstract). *Eur Neuropsychopharmacol* 2002;12:S326.
- 30 Borbély AA, Mattmann P, Loepe M, Strauch I, Lehmann D: Effect of benzodiazepine hypnotics on all-night sleep EEG spectra. *Hum Neurobiol* 1985;4:189-194.
- 31 Müller MJ, Rossbach W, Mann K, Röschke J, Müller-Siecheneder F, Blümmler M, Wetzel H, Russ H, Dittmann RW, Benkert O: Subchronic effects of olanzapine on sleep EEG in schizophrenic patients with predominantly negative symptoms. *Pharmacopsychiatry* 2004;37:157-162.
- 32 Herrmann WM, Schaefer E: Pharmacology-EEG: computer EEG analysis to describe the projection of drug effects on a functional cerebral level in humans; in Lopes da Silva FH, Storm van Leeuwen W, Rémond A (eds): Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. Amsterdam, Elsevier, 1986, vol 2, pp 385-448.
- 33 Saletu B: The use of pharmacology-EEG in drug profiling; in Hindmarch I, Stonier PD (eds): Human Psychopharmacology. Measures and Methods. New York, Wiley & Sons Ltd, 1987, vol 1, pp 173-200.
- 34 Galderisi S: Clinical applications of pharmacology-EEG in psychiatry: the prediction of response to treatment with antipsychotics. Proceedings of the 12th meeting of the IPEG (International Pharmacology-EEG Society), Barcelona. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002;24(suppl C):85-89.
- 35 Barbanoj MJ, Riba J, Morte A, Antonijoan RM, Jané F: Basics of PK-PD using QEEG: acute/repetitive administration, interactions. Focus on anxiolytics with different neurochemical mechanisms as examples. Proceedings of the 12th meeting of the IPEG (International Pharmacology-EEG Society), Barcelona. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002;24(suppl C):67-83.

Sex differences in sleep after a single oral morning dose of olanzapine in healthy volunteers.

Sandra Giménez , Sergio Romero , Gich I , Susana Clos, Eva Grasa , Antonijoan Rosa-María, Manuel-José Barbanoj.

Human Psychopharmacolog Clinical and Experimental
2011; 26, (7) : 498-507.

HUMAN PSYCHOPHARMACOLOGY

Hum. Psychopharmacol Clin Exp 2011; **26**: 498–507.Published online 28 September 2011 in Wiley Online Library
(wileyonlinelibrary.com) DOI: 10.1002/hup.1232

Sex differences in sleep after a single oral morning dose of olanzapine in healthy volunteers

Sandra Giménez^{1,2,3*}, Sergio Romero^{4,5}, Ignasi Gich^{1,2,3,6}, Susana Clos^{1,2,3}, Eva Grasa^{1,2,3}, Antoni Joan Rosa-María^{1,2,3,6} and Manuel-José Barbanoj^{1,2,3,6,7}¹Centre d'Investigació de Medicaments, Institut de Recerca de l'HSCSP, Barcelona²Departament de Farmacologia i Terapèutica, UAB, Barcelona³Centro de Investigación Biomédica de Salud Mental, CIBERSAM, Spain⁴Department of Automatic Control (ESAT), Biomedical Engineering Research Centre (CREB), Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Barcelona, Spain⁵Centro de Investigación Biomédica de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER-BBN, Spain⁶Servei de Farmacologia Clínica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP), Barcelona, Spain**Objective** Polysomnography abnormalities are frequent in schizophrenia and have been correlated with clinical variables. Because women with schizophrenia present a general better clinical outcome than men, we aimed to determine whether sex differences in antipsychotic-induced effects on sleep could contribute to this difference.**Methods** Single oral morning doses of olanzapine (5 mg) were administered to 10 men and 10 women. Sleep variables were evaluated using traditional polysomnography Rechtschaffen and Kales criteria and all-night sleep electroencephalogram spectral analysis. Drug plasma concentrations were also measured.**Results** Significant sex-by-drug interactions were obtained in slow-wave sleep. After olanzapine, women showed an increase in slow-wave sleep, whereas men showed a decrease. We did not observe sex differences in olanzapine-induced hypnotic effects. Neither did we find any significant differences in pharmacokinetic parameters between sexes. Significant sex effects were observed in deep sleep, with women showing longer periods than men.**Conclusion** Our results showed significant pharmacodynamic differences in olanzapine sleep effects between men and women. Further studies in clinical populations are needed to assess if these sex-based differences suggest that optimal treatment and doses should differ between men and women. Copyright © 2011 John Wiley & Sons, Ltd.

KEY WORDS—sex differences; sleep; spectral analysis; healthy volunteers; olanzapine; schizophrenia

INTRODUCTION

Growing evidence confirms differences between the sexes in the prevalence and course of several psychiatric disorders. Understanding sex-specific brain differences in healthy individuals is a critical first step towards understanding sex-specific expression of psychiatric disorders (Cosgrove *et al.*, 2007).

Many methodologies have been used to evaluate such differences. Studying sleep by means of polysomnography (PSG) is a useful tool as a window to explore brain function and to investigate the effects of psychotropic drugs (Paterson *et al.*, 2011). Consistency between data

from traditional polysomnographic recordings and spectral sleep electroencephalogram (EEG) analysis support the view that sex differences influence human sleep patterns and sleep quality (Latta *et al.*, 2005). Nevertheless, the significance of the interaction between these sex*sleep EEG changes and the effects of pharmacological treatment is unknown.

In schizophrenia, women appear to have a generally better clinical outcome than men (Abel *et al.*, 2010). However, the influence of sex on the efficacy and side effects of antipsychotic agents has not yet been clearly established. Although some authors have found significant sex differences in the response to antipsychotic treatment (Szymanski *et al.*, 1996; Goldstein *et al.*, 2002; Seeman 2004; Lipkovich *et al.*, 2007; Usall *et al.*, 2007; Smith, 2010a, b), others did not find gender differences in response to neuroleptic medication (Pinals *et al.*, 1996; Labelle *et al.*, 2001; Müller *et al.*, 2006).

*Correspondence to: S. Giménez, MD, CIM-Sant Pau, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Av. Sant Antoni M^o Claret, 167, 08025 Barcelona, Spain. Phone +34 93 5537855. E-mail: sgimenez@santpau.cat

⁷Professor MJ Barbanoj passed away last December. We deeply regret the loss of a brilliant scientist and a good friend.

Sleep complaints are frequent in schizophrenia, and polysomnography abnormalities seem to correlate with relevant clinical variables (Cohrs, 2008). However, to our knowledge, no attempts have yet been made to assess the existence and relevance of differences between genders regarding clinical improvement and normalisation of sleep after pharmacological treatment. To date, only one study has evaluated sex differences in healthy human sleep EEGs after antipsychotic drugs (Lindberg *et al.*, 2002). The authors found a greater increase in slow-wave sleep (SWS) in women than men after a single evening dose of olanzapine, suggesting that the effective clinical dose could be lower for women than for men. The authors, however, evaluated evening doses only, and did not take drug plasma levels into account. Furthermore, data were analysed by means of repeated measure *t*-tests. We consider other approaches might be more suitable to assess sex-by-drug interactions.

Morning doses of olanzapine have been found to produce a more striking SWS enhancement than evening administrations (Staner *et al.*, 2002). We hypothesised that sex differences on sleep after a morning administration of olanzapine could contribute to the differences in clinical outcome.

We performed a sleep laboratory study in healthy young volunteers to estimate the direct pharmacological effects of antipsychotics on sleep, independently of their influence on psychotic symptoms.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Study population

The study group consisted of 20 healthy young adult volunteers of both sexes (10 men and 10 women) at the Drug Research Centre (Research Institute), Santa Creu i Sant Pau Hospital, Barcelona, Spain. All volunteers underwent screening in 3 weeks prior to the study procedures. Screening consisted of a medical interview, a physical examination, clinical laboratory tests (haematology, chemistry and urinalysis), and a 12-lead ECG. Pre-study examinations also included drug and alcohol urine screenings, serological tests (for hepatitis B and C, and HIV) and serum pregnancy evaluations for women. Exclusion criteria included any history of medical or psychiatric illness, and all participants were screened for sleep disturbances (Pittsburg sleep quality index <5).

Volunteers were not allowed to smoke or drink alcohol and coffee in 24 h before the experimental sessions or during the sessions. No strenuous physical exercise or naps were allowed in 24 h before or after

the experimental session. Participants were requested not to take any medication without the investigator's previous knowledge from the moment of screening until the end of the second experimental session. During the screening session, they were also asked to keep regular sleep-wake habits until the end of the second experimental session. Compliance with these instructions was verified from the participants' sleep diaries.

The trial was approved by the Hospital's Research Ethics Committee at the study centre and the Spanish Drug Agency and was conducted following the principles stated in the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines. All volunteers gave written informed consent before the trial and were paid for their participation.

Study design

The study was conducted according to a randomised, double-blind, placebo-controlled cross-over design. The participants all spent a total of six nights in the sleep laboratory. The first two nights, conducted at some moment in 3 weeks before the study sessions, consisted of an adaptation night to familiarise volunteers with the laboratory and recording procedures, and a control night.

Both experimental sessions consisted of two nights in the laboratory, and they were conducted in a sequential and randomised manner, separated by a 1-week washout window between sessions. Each experimental session included a baseline night in the sleep laboratory, morning drug administration and the following night in the sleep laboratory. In the morning of administration and under fasting conditions, single oral doses of Olanzapine (5 mg) and placebo were administered at 8:00 AM. Blood samples were obtained before drug intake and at 1 h intervals, thereafter until +12 h. The participants were under continuous supervision, and they were not allowed to nap. Sleep was evaluated on the second night. Results from the two nights following either olanzapine or placebo administration were considered for the final sleep evaluations.

Sleep recordings were performed in individual, sound-attenuated, temperature-regulated rooms. Volunteers had dinner at 8:00 PM and started sleep procedures 1 h later. The total time in bed was fixed at 8 h. Lights were turned off around 11:00 PM, and turned on around 7:00 AM the next morning.

Recordings and sleep stage classification

Data were acquired by means of (i) the Coherence 32E-Deltamed system, or (ii) the Sleep Lab-Aequitron

500

S. GIMÉNEZ ET AL.

Medical system; the same system was used for all recordings from each volunteer. Recordings consisted of six EEG channels (Fp1, Fp2, C3, C4, O1, O2 referenced to average mastoid [A1–A2], according to the 10–20 International System), two electro-oculographic leads (right and left, recorded between both external canthi, with a capacity to detect ocular movements in both directions: horizontal and vertical) and one chin electromyographic (EMG) channel consisting of two electrodes placed on the submentonian muscles, to monitor muscle tone. EMG was filtered to a bandwidth of 10–75 Hz with a sensitivity of 50 μ V/mm. A 50-Hz notch filter was used to attenuate electrical noise. The electrodes were gold-plated. Channels were calibrated prior to each recording and electrode impedance was kept below 10 Kohms. The sleep recordings were visually scored in a 30-s epoch resolution according to the traditional standard R&K criteria (Rechtschaffen and Kales, 1968) using the View and Rate (Cdatentechnik GbR, © 1995–1999 3.02 version) programme. Analysis was performed by two independent sleep scorers. Discrepancies were solved by the third expert from the same laboratory. Each scorer was blind to the other raters' analysis and to the treatment received by the participant. Sleep variables were derived by visual scoring using standard criteria and were classified into two groups: (i) sleep initiation and maintenance and (ii) sleep architecture.

Electroencephalogram power spectra. Electroencephalogram signal was high-pass (0.3 Hz) and low-pass (35 Hz) filtered before being converted from analogue to digital form, and the sampling frequency was 256 Hz. Power spectra of 5-second artefact-free epochs, weighted by a Hanning window, were computed using the Fast Fourier Transform and matched with the sleep scores. Epochs containing artefacts caused either by saturation or muscle activity were automatically identified and eliminated. Power density values (C4A1 derivation) were averaged into 0.4 Hz (0.2–6.0 Hz) and 0.8 Hz (6.2–26.0 Hz) bins. The spectra were calculated separately for non-rapid eye movement sleep (NREMS Stages: 1, 2, 3 and 4), Stage 2 (S2), slow-wave activity (SWS: Stages 3 and 4) and REM sleep (REMS). Mean artefact-free recordings were computed for the olanzapine and placebo nights for men and women.

Dynamics of slow-wave activity (SWA) and spindle frequency activity (SFA) were computed throughout the whole night. SWA was defined as the power in the delta band (0.5–4.0 Hz) and SFA as the power in the sigma band (11.0–15.0 Hz) for the C4A1 derivation. These variables were computed from 5-s artefact-free epochs.

A moving average estimation of 5-min duration was computed to smooth the signal. Consecutive NREM–REM cycles were defined according to modified criteria of Feinberg and Floyd (Feinberg and Floyd, 1979). NREM episodes starting with Stage 2 and containing at least 15 min of Stages 2, 3 and 4 were followed by REM episodes of at least 5 min duration. No minimal criterion for the REM duration was applied for the completion of the first cycle. To compensate for the individual differences in the occurrence and duration of the NREM–REM cycles, a method derived from Aeschbach and Borbély was used (Aeschbach and Borbély, 1993). For SWA and SFA, we subdivided each NREM period of unequal length into 24 equal parts, and each REM period into four equal parts. These subdivisions were then averaged across subjects. Changes in both dynamic activities were evaluated on the raw data by calculating areas under the curves (AUC) in each cycle.

Pharmacokinetics variables. After blood collection, olanzapine plasma concentrations were determined. The analytical method used was on-line solid phase extraction directly coupled to liquid chromatography/tandem mass spectrometry. The quantification limit for olanzapine was 0.05 ng/mL. The intra-day and inter-day coefficients of variation were lower than 10%.

Pharmacokinetics (PK) availability parameters of olanzapine in plasma were calculated using non-compartmental methods with WinNonlin Professional, version 2.1 (Pharsight, Mountain View, CA, USA). The following parameters were calculated: peak plasma concentration (C_{max}) and time to reach C_{max} (t_{max}) were obtained directly from the raw data. The area under the plasma concentration-time curve (AUC) from 0 to infinity ($AUC_{0-\infty}$) was calculated as $AUC_{0-t_x} + C_{t_x}/K_e$, where t_x is the time of the last olanzapine concentration (C_{t_x}) exceeding the limit of quantification. K_e represented the first order elimination rate constant associated with the terminal (log-linear) portion of the curve, estimated via linear regression for time versus log concentration. All AUC values were calculated by applying the log-trapezoidal method. Terminal plasma elimination half-life ($t_{1/2}$) and apparent volume of distribution (V_z) were also computed. $T_{1/2}$ was calculated as $0.693/K_e$ and V_z was calculated as $D/(K_e \times AUC_{0-\infty})$, where D is the dose.

Statistical analysis. Polysomnography variables were grouped in four clusters to decrease the risk of type I error. The four clusters were as follows: (i) sleep initiation variables (latency to Stage 1, latency to Stage 2,

SEX DIFFERENCES IN SLEEP AFTER OLANZAPINE

501

latency to delta and REM latency); (ii) sleep maintenance variables (total sleep period (TSP), total sleep time (TST), sleep efficiency (%), wake/TSP (min) and wake/TSP (%)); (iii) absolute sleep architecture variables (Stage 1, Stage 2, REM, SWS in minutes and movement time/TSP); and (iv) percentage of architecture variables (Stage 1, Stage 2, SWS, REM in % and Movement time/TSP) were subjected to a multivariate analysis of variance (MANOVA). Within each cluster, the MANOVA yielded the result of a general lineal model with two factors, one within-subject factor (treatment: olanzapine/placebo) and one between-subject factor (sex: men/women) for each variable. Wilks's lambda correction was used for multivariate analysis and Greenhouse–Geisser epsilon was applied for univariate analysis.

To assess drug effects on EEG power spectra at each sleep stage, we applied mixed two-way analyses of variance (ANOVAs) (within subject factor: treatment, between-subject factor, sex) to each frequency bin. To assess drug effects on the dynamics of the EEG power spectra, we applied mixed two-way ANOVAs (within subject factor: treatment, between-subject factor, sex) to each AUC.

Linear mixed models were used to maximise the information because these variables had missing values and the total number of full cases thus diminished. We used the restricted maximum likelihood calculation method. The appropriate covariance structure was determined using Akaike's and Schwarz's information criteria and the normality for residuals was evaluated with a Kolmogorov–Smirnov test.

Statistical analysis was performed using PASW Statistics 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software. Differences were considered statistically significant when the probability of a type I error was less than 0.05.

RESULTS

Study population

Twenty healthy young volunteers (10 males and 10 females) participated in the study. All subjects completed the trial and were compliant with the study protocol. The active treatment was well-tolerated. No significant differences were found between men and women for age. Regarding anthropometric data, there were no differences for height and body mass index (BMI) but weight was significantly lower in women (Table 1).

Polysomnography sleep variables

Sleep initiation and maintenance. Multivariate analysis of variance applied to latency variables (sleep initiation)

Table 1. Demographic data of the 20 participants, 10 men and 10 women (mean \pm SEM)

	Men	Women	Statistics (<i>p</i>)
Age (years)	29.1 \pm 6.62	24.7 \pm 2.98	0.079
Weight (kg)	69.0 \pm 5.12	56.6 \pm 4.48	0.000
Height (cm)	171.5 \pm 6.67	151.7 \pm 31.6	0.082
BMI (kg/m ²)	23.27 \pm 1.687	21.68 \pm 2.199	0.087

SEM, standard error of mean.

showed significant drug effects (Pillai's trace: 0.464; $F = 3.246$; $df = 4, 15$; $p = 0.042$). No significant effects were observed either in the sex factor or in the interaction drug by sex. All latencies were shorter after olanzapine than after placebo, with differences reaching statistical significance when the univariate analysis was performed only at the REM sleep latency (Table 2).

Multivariate analysis of variance applied to maintenance variables also showed a trend to show significant drug effects (Pillai's trace: 0.489; $F = 2.677$; $df = 4, 14$; $p = 0.067$) and no significant effects in the sex factor or in the drug by sex interaction. Univariate analysis showed significant effects of olanzapine in comparison with placebo, increasing TST ($p = 0.003$) and sleep efficiency ($p = 0.002$) and decreasing wake time, either in minutes ($p = 0.003$) or in percentages ($p = 0.002$) (Table 2).

Sleep architecture. Multivariate analysis of variance applied to sleep architecture variables measured in absolute terms (in minutes) showed significant drug effects in all evaluated factors (Pillai's trace: 0.539; $F = 3.269$; $df = 5, 14$; $p = 0.037$), significant sex effects (Pillai's trace: 0.668; $F = 5.640$; $df = 5, 14$; $p = 0.005$) and significant drug-by-sex interaction (Pillai's trace: 0.581; $F = 3.876$; $df = 5, 14$; $p = 0.021$). Univariate analysis showed that olanzapine induced significant increases in SWS ($p = 0.005$) and REM sleep ($p = 0.018$). Regarding sex, the only significant univariate effect was observed in SWS ($p < 0.001$); women showed longer periods of SWS than men. The interaction drug by sex was significant in SWS ($p = 0.001$) and Stage 2 ($p < 0.001$). After olanzapine, women showed an increase in SWS, and men presented a decrease (+51.2 vs -5.7 min, in average). They also showed a decrease in Stage 2, whereas men presented an increase (-37.4 vs +49.9 min, in average) (Table 2).

Multivariate analysis of variance applied to sleep architecture variables measured as a percentage of TSP showed a similar pattern of effects to that obtained in sleep architecture variables measured in absolute terms (Pillai's trace: 0.513; $F = 2.947$; $df = 5, 14$; $p = 0.051$),

Table 2. Sleep measures after a single oral morning dose of olanzapine 5 mg and placebo in 10 men and 10 women (mean \pm SEM)

	Men		Women		GLM		
	Placebo	Olanzapine	Placebo	Olanzapine	D	S	I
Sleep initiation (MANOVA: D: 0.037, S: 0.005, I: 0.021)							
Latency to Stage 1 (minutes)	21.2 \pm 34.21	8.7 \pm 7.18	7.80 \pm 14.50	3.2 \pm 2.80	0.145	0.155	0.471
Latency to Stage 2 (minutes)	24.0 \pm 36.13	14.0 \pm 9.41	10.15 \pm 14.14	7.0 \pm 3.09	0.250	0.154	0.547
Latency to SWS (minutes)	24.9 \pm 24.77	23.55 \pm 14.00	11.24 \pm 2.03	18.3 \pm 14.7	0.505	0.339	0.116
REM latency (minutes)	81.4 \pm 27.79	69.05 \pm 26.86	99.60 \pm 45.23	62.20 \pm 36.21	0.019	0.648	0.210
Sleep maintenance (MANOVA: D: 0.049, S: 0.049, I: 0.003)							
Total sleep period (minutes)	455.6 \pm 36.59	465.2 \pm 10.02	467.4 \pm 14.97	469.9 \pm 9.05	0.316	0.273	0.552
Total sleep time (minutes)	400.8 \pm 66.68	455.1 \pm 13.34	438.5 \pm 48.16	467.6 \pm 9.08	0.003	0.103	0.296
Sleep efficiency (%)	83.46 \pm 13.86	95.0 \pm 2.73	91.73 \pm 9.8	98.0 \pm 1.05	0.002	0.076	0.292
Wake/TSP (minutes)	54.7 \pm 57.38	10.05 \pm 9.28	28.9 \pm 34.7	2.7 \pm 3.30	0.003	0.159	0.374
Wake/TSP (%)	15.7 \pm 13.94	4.0 \pm 2.36	7.8 \pm 9.88	1.27 \pm 1.00	0.002	0.091	0.303
Sleep architecture: in absolute terms (minutes) (MANOVA: D:0.042, S:0.260, I:0.557), in relative terms (%) (MANOVA: D:0.067, S:0.201, I:0.714)							
Stage 1	18.7 \pm 9.95	18.8 \pm 8.37	18.2 \pm 10.18	9.1 \pm 5.68	0.087	0.110	0.081
(%)	(4.3 \pm 1.94)	(4.9 \pm 1.90)	(4.3 \pm 2.15)	(2.6 \pm 1.27)	(0.312)	(0.082)	(0.044)
Stage 2	212.8 \pm 53.72	262.6 \pm 18.33	230.8 \pm 0.72	193.4 \pm 36.80	0.527	0.056	0.000
(%)	(44.3 \pm 11.10)	(54.8 \pm 3.81)	(48.3 \pm 4.49)	(47.5 \pm 19.10)	(0.218)	(0.638)	(0.155)
SWS	80.6 \pm 25.94	74.9 \pm 19.83	95.5 \pm 26.17	146.8 \pm 25.59	0.005	0.000	0.001
(%)	(16.8 \pm 5.44)	(15.6 \pm 4.12)	(19.9 \pm 5.38)	(30.9 \pm 5.58)	(0.003)	(0.000)	(0.001)
REM	85.0 \pm 38.96	95.1 \pm 16.70	89.8 \pm 32.11	115.0 \pm 22.86	0.018	0.278	0.279
(%)	(17.7 \pm 8.14)	(19.9 \pm 3.50)	(18.7 \pm 6.64)	(24.1 \pm 4.84)	(0.015)	(0.263)	(0.264)
Movement time	3.9 \pm 3.5	3.7 \pm 4.11	4.4 \pm 4.06	2.5 \pm 2.54	0.244	0.803	0.319
(%)	(0.79 \pm 0.73)	(0.86 \pm 0.82)	(0.91 \pm 0.85)	(0.52 \pm 0.52)	(0.354)	(0.684)	(0.203)

D, drug factor; S, sex factor; I, interaction drug by sex; SEM, standard error of mean; MANOVA, multivariate analysis of variance; REM, rapid eye movement; SWS, slow-wave sleep; TSP, total sleep period.

significant sex effects (Pillai's trace: 0.694; $F=6.364$; $df=5,14$; $p=0.003$) and significant drug-by-sex interaction (Pillai's trace: 0.516; $F=2.980$; $df=5,14$; $p=0.049$). Univariate analysis showed that olanzapine induced significant increases in SWS ($p=0.003$) and REM sleep ($p=0.015$). Regarding sex, the only univariate significant effect was observed in SWS ($p < 0.001$); women showed a higher percentage than men. The interaction drug by gender was significant in SWS ($p=0.001$) and Stage 1 ($p=0.044$). After olanzapine, women showed an increase in SWS, and men presented a decrease (+11 vs -1.2%, in average). They also showed a decrease in Stage 1, whereas men presented an increase (-1.7 vs +0.6%, in average) (Table 2).

Spectral analysis

Electroencephalogram power spectra. Figure 1 shows the mean all night power spectra for men and women. The values for drug nights are expressed as the

percentage of the placebo night. Descriptive data analyses showed most significant effects in the drug factor, some significant effects in the sex factor and no effects in the interaction drug-by-sex. In the NREMS power spectrum, olanzapine induced values below placebo level in the high frequency range (frequencies higher than 10 Hz). These values were statistically significant. Drug effects in the spectrum in Stage 2 were similar to those in NREMS. In the SWS spectrum, additional significant reductions at the 0.8–4.8 Hz frequency range were also obtained. In REMS, the power density was significantly reduced in the 11.6–22.0 Hz frequency range. Regarding the sex factor, significant results were only observed in the NREMS power spectrum in the 0.4 bin and in the 2.0–2.8 Hz frequency range, showing higher values in women than in men.

Dynamics of slow-wave activity. On all nights, both after placebo and olanzapine and both in men and in women, SWA was higher in NREMS and lower

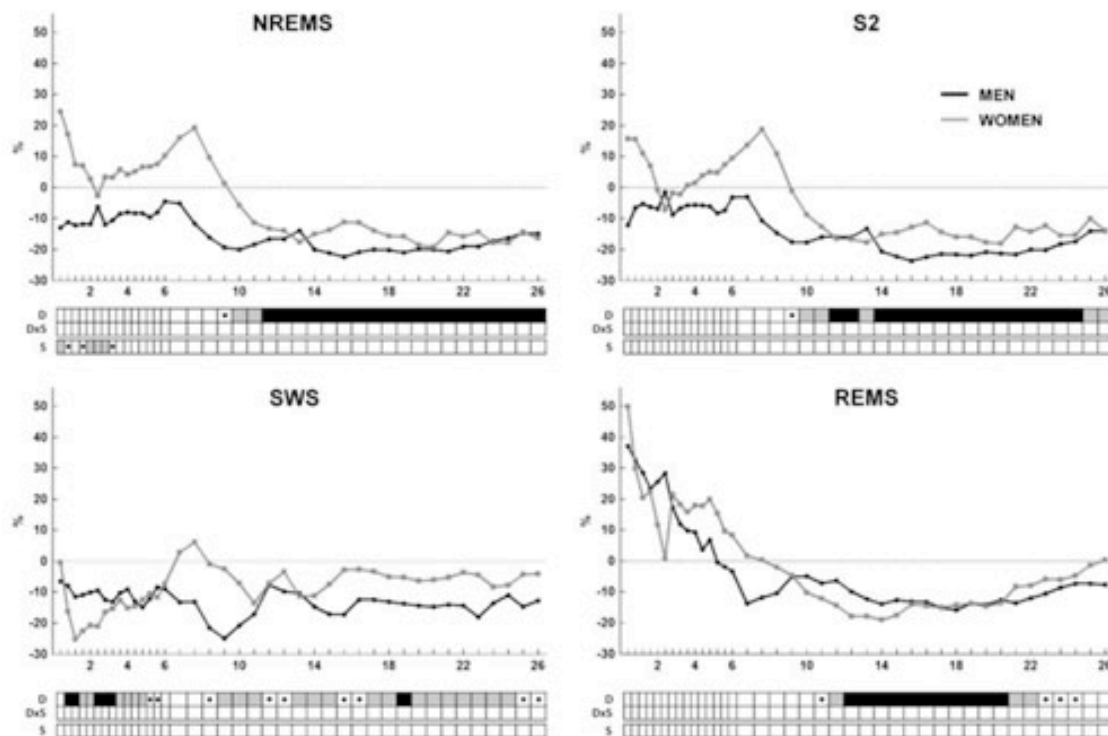


Figure 1. Electroencephalogram power density (C4A1-derivation) in non-rapid eye movement sleep (NREMS: Stages 1,2,3 and 4), Stage 2 (S2), slow-wave sleep (SWS: Stages 3 and 4) and rapid eye movement sleep (REMS) after one single oral morning dose of olanzapine 5 mg and placebo in 10 men and 10 women. For each frequency bin ($n=10$, per group), means were expressed as a percentage of the corresponding value after placebo (horizontal lines at 0%). Code at the bottom of the panels indicated statistical results of mixed two-way analyses of variance (D, within subject factor drug; S, between subject factor sex; DxS, interaction factor) descriptively applied to each frequency bin (black $p < 0.01$; dot $p < 0.05$; and grey $p < 0.10$)

504

S. GIMÉNEZ ET AL.

in REMS, and a declining trend was seen over consecutive NREMS episodes. Mixed MANOVA applied to the AUCs of the dynamics of SWA showed no significant effects on the drug factor or on the interaction drug by sex, but significant effects on the sex factor ($F=19.67$; $df=1,50,68$; $p<0.001$), mainly because women showed a higher AUC in the first NREM sleep episode than men. Figure 2 shows the time course of the SWA and the SFA activities for the C4A1 derivation.

Dynamics of spindle frequency activity. Both sexes showed the typical pattern of SFA with low values in REMS episodes, and a higher level, U-shaped pattern (with lowest values coinciding with highest values of SWA) in NREMS, both after placebo and after olanzapine. Mixed MANOVA applied to the AUCs of the dynamics of SFA showed no significant effects on the drug factor, on the sex factor or on their interaction. Univariate analysis, however, showed that olanzapine induced significant decreases in SFA in the second ($p=0.047$) and in the fourth ($p=0.033$) NREM sleep episodes. Univariate analysis also showed a significant drug-by-sex interaction in the third NREM sleep

episode ($p=0.027$): olanzapine produced an increase in women but a decrease in men.

Pharmacokinetics

Figure 3 depicts the mean plasma concentrations versus time profiles for olanzapine in men and women. Although the values were higher in women than in men, no significant differences were observed at any time points over the 12-hour period evaluated. Table 3 shows the results of the comparative analysis of the PK availability parameters calculated. No significant differences were obtained between men and women in $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , T_{max} , K_e , $t_{1/2}$ and V_e .

DISCUSSION

The main findings in the present study were significant sex differences in antipsychotic-induced effects on sleep after single oral morning doses of olanzapine. Significant drug-by-sex interactions were obtained in traditional PSG R&K analysed data, specifically in architecture variables: in SWS, women showed an increase and men a decrease and in light sleep, women

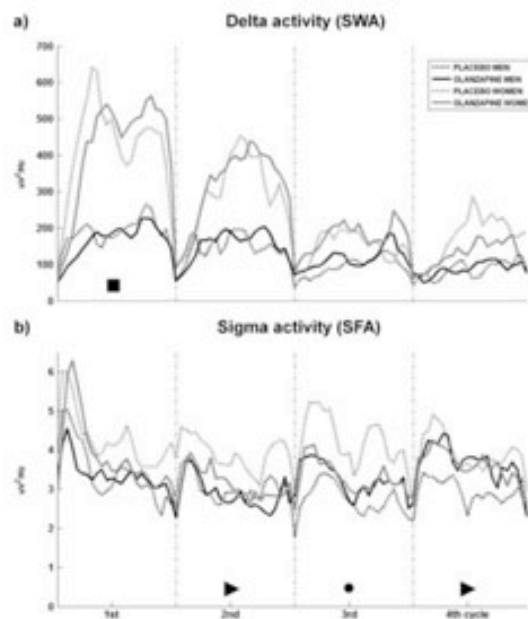


Figure 2. Time course of electroencephalogram slow-wave activity (SWA: 0.5–4.0 Hz range; C4A1-derivation) and spindle frequency activity (SFA: 11.0–15.0 Hz range; C4A1-derivation) plotted after one single oral morning dose of olanzapine 5 mg and placebo in 10 men and 10 women. For each subject, individual NREMS episodes were subdivided into 24 equal time bins. Data were averaged across subjects ($n=10$, per group) and plotted against the mean timing of non-rapid eye movement sleep (NREMS). Dashed vertical lines delimit NREMS episodes. Statistically significant effects in the drug factor (triangle), sex factor (square) or in the interaction (circle) were depicted.

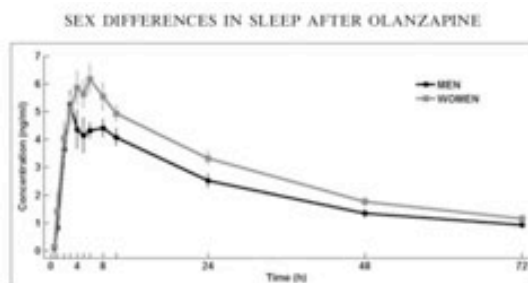


Figure 3. Mean plasma drug concentrations as a function of time after olanzapine intake averaged for 10 men and 10 women volunteers. Standard error of mean was also depicted for each time profile

Table 3. Pharmacokinetics variables after a single oral morning dose of olanzapine 5 mg and placebo in 10 men and 10 women (mean \pm SEM)

	Men	Women	Statistics (<i>p</i>)
$AUC^{0-\infty}$ (ng·h/mL)	202.29 \pm 52.412	248.52 \pm 72.011	0.118
C_{max} (ng/mL)	5.62 \pm 1.542	6.85 \pm 1.900	0.129
T_{max} (h)	5.0 \pm 2.26	5.2 \pm 2.57	0.856
Vd/F (mL)	1,198.765 \pm 392,966.2	915.512 \pm 326,446.5	0.097
Cl/F (mL/h)	26,001.1 \pm 5,651.57	21,994.38 \pm 7,851.02	0.207
K_{el} (h ⁻¹)	0.023 \pm 0.0069	0.024 \pm 0.0045	0.621
$T_{1/2}$ (h)	32.93 \pm 11,919	29.44 \pm 6,844	0.433

SEM, standard error of mean.

presented decreases whereas men showed increases. All-night sleep EEG spectral analysis showed only marginal olanzapine-induced sex differences: increases in women but decreases in men regarding SFA in the third NREM sleep episode. No sex differences were observed, however, in olanzapine induced hypnotic effects (increases in TST, sleep efficiency and decreases in wake time), changes in REM sleep or spectral analysis results. Significant sex effects were observed. Women presented higher SWS, higher NREM power spectrum in the 0.4 bin and in the 2.0–2.8 Hz frequency range and higher AUC of SWA in the first NREM sleep episode.

Our findings showing sex differences on SWS after olanzapine are similar to results of Lindberg *et al.* (2002) but in contrast with our results, they also found an increase in SWS in men, whereas Stage 2 decreased in men and increased in women. There were several methodological differences between the two studies, however. Lindberg *et al.* administered a higher dose (10 mg vs 5 mg in our study) and the dose was given in the evening (6:00 PM) while we administered the drug in the morning (8:00 AM). Moreover, data in Lindberg's study was analysed by means of repeated measure *t*-tests, while we used a general linear model, which is more specific assessing sex-by-drug interaction.

Studies in both animals and humans indicate that SWS is regulated by serotonin through 5-HT₂ receptors (Sharpley *et al.*, 1990). The 5-HT₂ receptor family is currently subdivided into three specific subtypes, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C}. However, the respective contribution of each 5-HT₂ receptor subtype in NREMS regulation is far from clear. Drug challenging studies in humans using 5-HT_{2A/2C} antagonist receptors conclude that SWS in humans is primarily regulated by 5-HT_{2C} (Sharpley *et al.*, 1994), but knockout mice studies have not produced such straightforward results (Popa *et al.*, 2005). The SWS effects of olanzapine have been associated with its antagonism in the 5HT₂ receptors. Sharpley *et al.* (2001) calculated that a 50% increase in SWS observed after olanzapine (5 mg) corresponded to a central occupancy of 5-HT_{2C} receptors of at least 70%.

There is a large body of evidence supporting sex differences in 5-HT neurotransmission. Compared with men, women present higher serotonergic function with a major number of 5-HT_{1A} receptors (Parsey *et al.*, 2002). Sex differences in 5-HT_{2A} receptors, however, are not so clear.

Development of the sexually dimorphic brain is determined by the interaction of genetic and hormonal pathways (Davies and Wilkinson, 2006). Genes residing on the sex chromosomes can directly influence

brain phenotype in a gonadal hormone-independent manner. The 5-HT_{2C} receptor gene has been localised on the X chromosome and it contains a C-G polymorphism at codon 23 (nucleotide 68), where serine replaces cysteine in the receptor in approximately 15% of the population (Lappalainen *et al.*, 1995). It has been shown that the Ser23 allele may be constitutively more active than the Cys23 form. Moreover, the Ser23 variant has shown increases of norepinephrine turnover (Cerebrospinal fluid 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol), and might thus affect sleep through this mechanism (Lappalainen *et al.*, 1999). Sharpley *et al.* (2001), however, found no significant genotype effect on polysomnographic findings after administration of olanzapine 5 mg. Further studies concerning these functional 5-HT_{2C} gene variants, in addition to 5-HT_{2A} receptor gene studies, are required.

The serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{2A} receptor-containing neurons of the Dorsal Raphe Nuclei are predominantly GABAergic interneurons. The inhibitory GABAergic system plays an important role in the initiation and maintenance of SWS. Sex differences on sleep EEG power spectra with drugs interacting with the GABA_A receptor have been published. A major significant increase in delta and theta activity in NREM and REM sleep was observed in women compare with men after gaboxadol (Dijk, 2010). Interestingly, a sex difference in the improvement in sleep maintenance has been reported after gaboxadol with a bigger effect in insomniac women than insomniac men (Lankford *et al.*, 2008). Sex differences in cortical GABA levels in the expression of GABA_A receptor subtypes and their modulation by neurosteroids have been described (Li *et al.*, 2007).

We did not observe any differences in the hypnotic effects of olanzapine between sexes. In addition to the serotonin (5-HT_{2A/2C}) receptor, olanzapine has affinity for receptors of dopamine (D₁, D₂, D₃ and D₄), acetylcholine (M₁) and histamine (H₁) and may affect sleep through any of these systems. Dopaminergic function is enhanced in women (Lavalaye *et al.*, 2000) and has been related to the better effectiveness with antidopaminergic treatment drugs in women than in men. An increased number of cortical muscarinic acetylcholine receptors in women compare with men have also been reported.

When evaluating any difference between groups in drug effects, the possible contribution of pharmacokinetic (PK) differences should always be considered (Schwartz, 2003). Olanzapine is metabolised by direct N-glucuronidation, which is usually faster in men than in women (Kassahun *et al.*, 1997). A higher olanzapine concentration in women than in men has been found only after achieving steady-state levels (Kelly *et al.*,

1999; Gex-Fabry *et al.*, 2003). Although in our study, women weighed less than men, the combination of PK factors in our sample showed non-relevant sex differences in the plasma PK pattern of olanzapine, reinforcing the idea that the sex difference in the effects of olanzapine on SWS is truly pharmacodynamic.

Electroencephalogram power spectra analysis has been used to show sex differences for other drugs in NREM and REM sleep (Murck *et al.*, 2003; Dijk, 2010). Accordingly, we expected that more on sex sleep EEG differences would be elicited from the exhaustive spectral analysis performed.

Statistically significant differences regarding sex, according to the literature, these differences concerned deep sleep (duration of SWS, NREM power spectrum in low frequency bins, AUC of SWA dynamics), with women showing higher rates than men. It is not yet clear whether deep sleep differences between men and women are related to anatomical differences or to differences in homeostatic sleep processes (Roehrs *et al.*, 2006).

Our results showing sexual dimorphism in olanzapine sleep effects are statistically convincing as sex-by-drug interaction was used for their analysis. Nevertheless, additional evidence from studies using different doses, different dosing times, different aged participants and controlled menstrual cycle phases are needed to fully understand the relevance of these sexual differences in the sleep effects of drugs.

The clinical significance of the sex induced changes in sleep after olanzapine is complex to assess. Findings in controlled clinical trials have demonstrated that in response to olanzapine, women show a greater improvement in overall severity of symptomatology than men, regardless of chronicity or menopausal status (Goldstein *et al.*, 2002), and also greater cognitive improvement (Howard *et al.*, 2001). In schizophrenic patients, reductions in SWS and delta sleep have been linked to a poor clinical outcome and impairments in cognitive functioning (Görder *et al.*, 2006). These decreases may be caused by some dysfunction on 5-HT receptors (Benson *et al.*, 1991). By acting on 5-HT₂ receptors, atypical neuroleptics such as olanzapine might improve negative, cognitive and sleep symptoms. The greater increase in SWS observed in women in our study would, therefore, reflect a greater therapeutic effect, consistent with their better clinical outcome.

CONCLUSION

Significant sex differences in antipsychotic-induced effects on sleep were obtained after a single oral morning dose of olanzapine. These sex-based differences in pharmacodynamics may help to determine optimal treatment

and doses. Further studies in well-controlled groups of schizophrenic patients of both sexes are needed to extend and replicate present findings.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declare that they have no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the staff at the Centre d'Investigació de Medicaments de l'Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, in particular, Adelaida Morte and Liria da Graça for technical assistance during data collection, Mercedes Yritia, Mercedes Encabo, Araceli Castillo and Yolanda Alfaro for the quantification of olanzapine plasma concentrations, Cristina Baeza for the Linear Mixed Analysis, Angeles Funes for typing the manuscript and Carolyn Newy for help in the English editing of the manuscript.

Supported by a grant from the Fundació La Marató de TV3 (Catalonia Television, Spain) and from the Ministerio de Ciencia e Innovación from Spain (TEC2008-002754/TEC).

REFERENCES

- Abel KM, Drake R, Goldstein JM. 2010. Sex differences in schizophrenia. *Int Rev Psychiatr* **22**(5): 417–28.
- Aeschbach D, Borbély AA. 1993. All night dynamics of the human sleep EEG. *J Sleep Res* **2**: 70–81.
- Benson KL, Faull KF, Zarcone VP. 1991. Evidence for the role of serotonin in the regulation of slow wave sleep in schizophrenia. *Sleep* **14**: 133–139.
- Cohrs S. 2008. Sleep disturbances in patients with schizophrenia: impact and effect of antipsychotics. *CNS Drugs* **22**: 939–962.
- Cosgrove KP, Mazure CM, Staley JK. 2007. Evolving knowledge of sex differences in brain structure, function and. *Biol Psychiatr* **62**(8): 847–855.
- Davies W, Wilkinson LS. 2006. It is not all hormones: alternative explanations for sexual differentiation of the brain. *Brain Res* **1126**: 36–45.
- Dijk DJ. 2010. Sex differences and the effect of gaboxadol and zolpidem on EEG power spectra in NREM and REM sleep. *J Psychopharmacol* **24**: 1613–1618.
- Feinberg I, Floyd TC. 1979. Systematic trends across the night in human sleep cycles. *Psychophysiology* **16**: 282–291.
- Gex-Fabry M, Balant-Googla AE, Balant LP. 2003. Therapeutic drug monitoring of olanzapine: the combined effect of age, gender, smoking and comedication. *Ther Drug Monit* **25**: 46–53.
- Goldstein JM, Cohen LS, Horton NJ, et al. 2002. Sex differences in clinical response to olanzapine compared with haloperidol. *Psychiatr Res* **111**: 27–37.
- Göder R, Aldenhoff JB, Boigs M, et al. 2006. Delta power in sleep in relation to neuropsychological performance in healthy subjects and schizophrenia patients. *J Neuropsychiatr Clin Neurosci* **18**(4): 529–535.
- Howard CH, Fiedosewicz H, Patel C, et al. 2001. Treatment response and gender in patients with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Schizophr Res* **49**: 232.
- Kassahun K, Mattiaz E, Nyhart EJ, et al. 1997. Disposition and biotransformation of the antipsychotic agent olanzapine in humans. *Drug Metab Dispos* **25**: 81–93.
- Kelly DL, Conley RR, Tamminga CA. 1999. Differential olanzapine plasma concentrations by sex in a fixed-dose study. *Schizophr Res* **40**: 101–104.
- Labelle A, Light M, Dunbar F. 2001. Risperidone treatment of outpatients with schizophrenia: no evidence of sex differences in treatment response. *Can J Psychiatr* **46**: 534–541.
- Lankford DA, Coeser BC, Zheng YP, et al. 2008. Effect of gaboxadol on sleep in adult and elderly patients with primary insomnia: results from two randomized, placebo-controlled, 30-night polysomnography studies. *Sleep* **31**: 1359–1370.
- Lappalainen J, Zhang L, Dean M, et al. 1995. Identification, expression and pharmacology of a cys₂₃-ser₂₃ substitution in the human 5-HT_{2C} receptor gene (HTR2C). *Genomics* **27**: 274–279.
- Lappalainen J, Long JC, Virkkunen M, et al. 1999. HTR_{2C} Cys23 Ser polymorphism in relation to CSF monoamine metabolite concentrations and DSM-III-R psychiatric diagnoses. *Biol Psychiatr* **46**: 821–826.
- Latta F, Leproult R, Tassali E, et al. 2005. Sex differences in delta and alpha EEG activities in healthy older adults. *Sleep* **28**: 1525–1534.
- Lavallay J, Booij J, Reneman L, et al. 2000. Effect of age and gender on dopamine transporter imaging with [¹²³I]FP-CIT SPET in healthy volunteers. *Eur J Nucl Med* **27**: 867–869.
- Li H, Huguenard JR, Fisher RS. 2007. Gender and age differences in expression of GABA_A receptor subunits in rat somatosensory thalamus and cortex in an absence epilepsy model. *Neurobiol Dis* **25**: 623–630.
- Lindberg N, Virkkunen M, Tani P, et al. 2002. Effect of a single-dose of olanzapine on sleep in healthy females and males. *Int Clin Psychopharmacol* **17**: 177–184.
- Lipkovich I, Deberdt W, Csernansky JG, et al. 2007. Predictors of risk for relapse in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder during olanzapine drug therapy. *J Psychiatric Res* **41**: 305–310.
- Müller MJ, Regenbogen B, Sachse J, et al. 2006. Gender aspects in the clinical treatment of schizophrenic inpatients with amisulpride: a therapeutic drug monitoring study. *Pharmacopsychiatr* **39**: 41–46.
- Murek H, Nickel T, Künzel H, et al. 2003. State markers of depression in sleep EEG: dependency on drug and gender in patients treated with tianeptine or paroxetine. *Neuropsychopharmacology* **28**: 348–358.
- Parsey R, Oquendo M, Simpson N, et al. 2002. Effect of sex, age, and aggressive traits in man on brain serotonin 5-HT_{1A} receptor binding potential measured by PET using [C-11]WAY-100635. *Brain Res* **954**: 173–182.
- Paterson LM, Nutt DJ, Wilson SJ. 2011. Sleep and its disorders in translational medicine. *J Psychopharmacol*. DOI: 10.1177/0269881111400643
- Pinals DA, Malhotra AK, Missar CD, et al. 1996. Lack of gender differences in neuroleptic response in patients with schizophrenia. *Schizophr Res* **22**: 215–222.
- Rechtschaffen A, Kales A. 1968. *A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects*. U.S. Government Printing Office: Washington, DC.
- Roehrs T, Kapke A, Roth T, et al. 2006. Sex differences in polysomnographic sleep of young adults: a community-based study. *Sleep Med* **7**: 49–53.
- Schwartz JB. 2003. The influence of sex on pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* **43**: 107–121.
- Seeman MV. 2004. Gender differences in the prescribing of antipsychotic drugs. *Am J Psychiatr* **161**: 1324–1333.
- Sharpley AL, Solomon RA, Fernando AL, et al. 1990. Dose-related effects of selective 5-HT₂ receptor antagonists on slow wave sleep in humans. *Psychopharmacology* **101**: 568–569.
- Sharpley AL, Elliott JM, Attenburrow MJ, et al. 1994. Slow wave sleep in humans: role of 5-HT_A and 5HT_{2C} receptors. *Neuropharmacology* **33**: 467–471.
- Sharpley AL, Vassallo CM, Pooley EC, et al. 2001. Allelic variation in the 5-HT_{2C} receptor (HTR2C) and the increase in slow wave sleep produced by olanzapine. *Psychopharmacology* **153**: 271–272.
- Smith S. 2010a. Gender differences in antipsychotic prescribing. *Int Rev Psychiatr* **22**(5): 472–84.
- Smith M. 2010b. Gender differences in antipsychotic prescribing. *Int Rev Psychiatr* **22**(5): 472–84.
- Stoner L, Haba J, Granier LA, et al. 2002. Comparison of the effects on sleep EEG of morning versus evening administration of olanzapine: a placebo-controlled study in healthy volunteers (abstract). *Eur Neuropsychopharmacol* **12**: S326.
- Szymanski S, Lieberman J, Pollack S, et al. 1996. Gender differences in neuroleptic –nonresponsive clozapine-treatment schizophrenics. *Biol Psychiatr* **39**: 249–254.
- Usali J, Suarez D, Haro JM, SOHO Study Group. 2007. Gender differences in response to antipsychotic treatment in outpatients with schizophrenia. *Psychiatr Res* **153**: 225–231.

RESUM RESULTATS

RESULTAT 1. *Effects of olanzapine, risperidone and haloperidol on sleep after single oral morning dose in healthy volunteers.*

- 1) No es van trobar diferències significatives en cap de les variables subjectives ni objectives entre la nit control i la nit amb placebo demostrant una correcta adaptació a les condicions de laboratori descartant factors de confusió addicionals.
- 2) L'administració oral de dosis única al matí dels diferents antipsicòtics van provocar canvis significatius en el EEG de son, visibles en la macroestructura del son. Els resultats polisomnogràfics van mostrar increments significatius en el temps total de son (TST), eficiència de son (SE), son d'ondes lentes (SWS) i son REM (REM) amb disminució del temps de vigília després de l'administració d'olanzapina. Amb la risperidona, es registraren decrements del temps de vigília i canvis de fase amb augments en l'estadi 2 i son REM. Amb l'haloperidol només es va veure una tendència en millorar la SE, augmentar l'estadi 2 de son i disminuir el temps de vigília.
- 3) S'evidencien canvis significatius en la microestructura i dinàmica del son amb l'administració dels diferents antipsicòtics. En l'anàlisi espectral, després de l'administració d'olanzapina, es registren disminucions del poder espectral en les freqüències superiors a 10Hz en tots els estats del son i en el rang de freqüències inferiors a 5Hz en el SWS, així com disminucions en la dinàmica de l'activitat freqüencial fusiforme (SFA) en el segon i quart episodi de son NREM. Amb l'administració de risperidona s'observen augments en el rang de

freqüències de 3.6 a 10.8 Hz en els estats de son NREM i fase 2. Amb l'Haloperidol, també es registraren increments en els estats de son NREM i fase 2, però en freqüències superiors a 10 Hz i increments en la dinàmica de la SFA en el primer episodi del son NREM.

- 4) L'anàlisi subjectiu va mostrar una millora significativa en la qualitat de son després de l'administració d'olanzapina.
- 5) S'observen canvis significatius, objectius i subjectius, en el son després de 15 hores de l'administració de dosis úniques al matí d'olanzapina, risperidona i haloperidol.
- 6) Després de l'administració dels diferents antipsicòtics es van obtenir canvis significatius en el son, diferents per cada fàrmac segons el perfil bioquímic de cada compost.

RESULTAT 2. *Waking and sleep EEG variables as human sleep homeostatic process biomarkers after drug administration.*

Després de l'administració de dosi única de 5 mg d'olanzapina al matí, es van registrar augments significatius en la potència absoluta theta (3.5-7.5 Hz) en els diferents temps d'administració respecte als valors basals durant la vigília. Durant el son, s'observen increments significatius del TST, SE, SWS i disminució del WASO. Però malgrat l'augment del temps de SWS, no s'obtenen canvis significatius en l'activitat SWA entre placebo i olanzapina. Finalment, tampoc es va poder correlacionar l'augment (%) del SWA del primer cicle de son REM (fàrmac vs. placebo) i la pendent (%/h) de la regressió ajustada entre els increments del poder relatiu theta (fàrmac vs.

placebo) i el temps en la vigília, fet que no reproduceix la relació descrita, en situacions de privació de son, entre ambdós marcadors homeostàtics del son.

RESULTAT 3. *Sex differences in sleep after a single oral morning dose of olanzapine in healthy volunteers.*

Amb l'administració de dosi única (5mg) d'olanzapina al matí, s'obtenen diferències significatives entre sexes en els efectes sobre el son induïts pels antipsicòtics.

Les interaccions principals sexe-fàrmac es van obtenir en les variables PSG, sobretot en el son lent profund (SWS) amb un augment en les dones y disminució en els homes (tant en minuts como en percentatge). En el son lent superficial, les dones van presentar disminucions a diferència dels homes que van enregistrar increments (en l'estadi 2 avaluat en minuts i en l'estadi 1 avaluat en percentatge). L'anàlisi espectral EEG de tota la nit només va mostrar diferències puntuals entre sexes induïdes per l'olanzapina, més concretament, amb increments en la activitat del rang dels fusos de son (SFA) del tercer cicle en les dones però amb disminucions en els homes.

No es van observar diferències entre sexes en els efectes hipnòtics induïts per la olanzapina (augment en el TTS, ES i disminució del temps de vigília), ni canvis en el son REM ni en l'anàlisi espectral.

En relació amb el factor sexe es van obtenir diferències significatives. Les dones en relació amb els homes van presentar més SWS (en minuts i en percentatge), més poder espectral en el son NREM en la freqüència de 0.4 Hz i en la banda de freqüències 2.0-2.8 Hz i un AUC més gran en la activitat freqüencial d'ondes lentes (SWA) en el primer cicle de son NREM.

No es van obtenir diferències significatives en els paràmetres farmacocinètics entre sexes.

DISCUSSIÓ

DISCUSSIÓ GENERAL

L'objectiu d'aquest estudi era avaluar de manera acurada, objectiva i subjectivament, l'efecte sobre el son de diferents antipsicòtics en l'home.

Com s'ha descrit en la introducció, tot i que aquests fàrmacs són molt utilitzats en la pràctica clínica habitual, són pocs els estudis que han avaluat correctament la repercussió d'aquests fàrmacs en el son. Les dades existents són disperses, i més tenint en compte que molts dels estudis realitzats són en pacients esquizofrènics i emprant diferent metodologia. L'avaluació dels efectes dels fàrmacs en voluntaris sans és doncs un pas imprescindible per a comprendre les interaccions entre els fàrmacs i la malaltia i per la seva posterior aplicació clínica.

En el moment de projectar aquesta tesi només existien dos estudis controlats amb subjectes sans després de l'administració d'olanzapina (Sharpely et al. 2000; Lindberg et al. 2002), un amb risperidona (Sharpley et al. 2003) i cap amb haloperidol. Els efectes sobre el son d'aquests fàrmacs no s'havien avaluat mai després d'una administració al matí, i només un estudi havia analitzat les dades mitjançant l'anàlisi espectral (Lindberg et al ,2002).

D1

D'acord amb aquestes premisses, per la present investigació es va dissenyar un estudi randomitzat, a doble cec, controlat amb placebo i creuat de quatre períodes on s'administraven una dosi única al matí de 5mg d'olanzapina, 1mg de risperidona i 3mg d'haloperidol en voluntaris sans. Després de 15 hores de la presa de la medicació s'observen canvis significatius, subjectius i objectius, en el son.

Donat el disseny de l'estudi, creuat i balancejat per seqüència, l'absència de diferències significatives en cap de les variables subjectives ni objectives entre la nit control i la nit amb placebo indica una correcta adaptació a les condicions de laboratori, garantint la importància de l'estratègia d'anàlisi escollit, es a dir, l'aplicació de GLM directament en les dades de cada sessió experimental sense cap ajustament pels registres basals de la nit anterior. Els resultats obtinguts doncs, objectivitzen l'efecte real "per se" dels diferents fàrmacs sobre el son, i sense factors de confusió.

L'administració de dosis úniques al matí d'olanzapina, risperidona i haloperidol en subjectes sans mostra canvis significatius en el son, diferents segons el perfil neuroquímic de cada compost. La olanzapina va ser la que va mostrar un perfil més hipnòtic, augmentant el TST i eficiència de son i disminuint el temps de vigília durant el son així com increments en el SWS. El bloqueig dels receptors α_1 adrenèrgics i els H_1 histaminèrgics es pressuposen com als mecanismes responsables de l'efecte hipnòtic mentre que l'antagonisme dels receptors 5HT_{2c} condicionarien l'increment de SWS (Sharpley, 2000). Respecte al son REM, es va observar un augment de son REM i una disminució de la latència de son REM, contràriament a les reduccions de son REM més freqüentment descrites a la literatura, tot i que es donen resultats molt dispars. Suposem que l'efecte comú de disminució de son REM per l'antagonisme dels receptors colinèrgics té lloc just després de l'administració d'olanzapina, pel que en el nostre estudi, aquest efecte ja hauria desaparegut i l'augment de son REM observat podria traduir un efecte rebot d'aquest mecanisme de disrupció presentat durant el dia.

L'augment de son en estadi 2, i no de SWS, observat amb la risperidona respon al fort antagonisme d'aquesta en els receptors 5HT_{2A} i dèbil en els 5HT_{2C}.

L'haloperidol fou el compost que va produir menys canvis en la PSG. La seva vida mitja més curta i l'absència d'antagonisme sobre els receptors 5HT₂ condicionen

mínims efectes sobre els son SWS, tot i que manté efectes hipnòtics pel seu pel seu potent bloqueig dopaminèrgic.

Respecte l'anàlisi espectral del son, els resultats són dispars i difícils de comparar ja que, a excepció de l'olanzapina, no es disposen d'estudis previs. Malgrat tot, la disminució de la potència en les freqüències més altes, tradueix la disminució de l'efecte alertitzant d'aquests compostos.

La percepció subjectiva de la qualitat de son, polisomnogràficament relacionada amb el SWS, va coincidir ser significativament millor després de l'administració d'olanzapina.

Aquests resultats presenten una avantatge addicional a l'eficàcia antipsicòtica dels diferents neuroleptics, ja que ofereix la possibilitat de seleccionar un neuroleptic específic en els pacients psiquiàtrics segons l'alteració de son que presentin. Tanmateix, el fet de que aquests efectes siguin evidents 15 hores després de la seva administració indica que els mecanismes del son són molt sensibles a la sedació comunament reportada amb els antipsicòtics i obliga a tenir present en la pràctica clínica habitual que l'impacte d'aquests fàrmacs en el son de nit es succeeix tant si es prescriuen al matí o a la nit.

D2

Després de l'administració oral al matí d'olanzapina, l'increment de l'activitat theta considerada com el biomarcador EEG en vigília de la propensió homeostàtica del son, no es va correlacionar amb l'increment de SWA, descrit com el biomarcador EEG en el son de la propensió homeostàtica del son. Aquest resultat no reproduceix

l'associació descrita entre ambdós biomarcadors EEG en situacions experimentals de privació de son, on està descrita una correlació positiva entre l'increment de l'activitat theta durant la vigília i l'augment de l'activitat de SWA durant el primer cicle de son REM (Finelli et al., 2000). En el nostre estudi, la condició experimental d'augment de propensió al son, enlloc d'induir una vigília perllongada es va reproduir mitjançant l'administració d'olanzapina. La olanzapina és un antipsicòtic amb canvis fàrmac EEG descrits tan en vigília, amb increments de l'activitat delta i theta (Morrens *et al.* 2007; Staner *et al.*, 2002) com en son, amb increments del SWS i disminució del temps de vigília intrason (WASO) (Salin-Pascual i cols., 2004; Sharpley i cols., 2000). Per utilitzar un anàlisi similar al realitzat amb de privació de son, el component EEG homeostàtic de vigília es va avaluar concatenant l'evolució de l'activitat theta després de placebo i després del fàrmac computant la pendent ascendent de la potencia theta absoluta. Com a component EEG homeostàtic de vigília, la evolució temporal de la potencia de la activitat d'ondes lentes (SWA) fou calculada, tot i la dissociació entre l'increment de SWS sense increment significatius de SWA obtinguts després de l'administració d'olanzapina. Aquesta dissociació però, està descrita en la literatura sobretot al avaluar els efectes de drogues sobre el son mitjançant mètodes d'anàlisi visual i anàlisi espectral on, els augments de son dels estadis 3 i 4 (SWS) no sempre es corresponen amb increments de la SWA (Borbély i cols., 1985). Ambdues aproximacions però van ser considerades en el present estudi. Es a dir, l'increment del percentatge de la potencia theta durant la vigília es va plotejar respecte al canvi de SWA en el primer episodi de son no REM després de l'administració d'olanzapina, i respecte a l'augment de la duració del SWS després de l'administració del fàrmac. Malgrat no es va poder obtenir cap correlació en cap cas, és clar que l'augment d'activitat theta durant la vigília, resta incrementada fins abans d'anar a dormir, fet que probablement ha

contribuït en l'augment de la propensió al son, representat per l'augment de la duració del SWS.

L'absència de relació entre ambdós marcadors EEG homeostàtics podria suggerir que en condicions farmacològiques, els mecanismes de resposta podrien originar uns biomarcadors EEG diferents als establerts en el camp de la regulació del son, resultants de les conseqüències neurofisiològiques de la presa de la medicació (p.ex. canvis en la connectivitat funcional entre regions cerebrals) més que el resultat de la propensió al son.

Són imprescindibles estudis addicionals amb distints tipus de drogues de diferents tipus farmacològics i diferents efectes sobre l'espectre EEG del cicle vigília-son per poder investigar i determinar els possibles roles dels biomarcadors EEG després d'intervencions farmacològiques. Aquesta informació és necessària donat les importants implicacions pràctiques en l'avaluació dels efectes secundaris dels fàrmacs sobre la vigília i el son, i l'impacta en el rendiment diari que comporten, contribuint entre d'altres, a minimitzar riscos o accidents.

D3

En aquest estudi, després de l'administració d'olanzapina (dosi única de 5 mg al matí), s'obtenen diferències significatives entre sexes en els efectes sobre el son.

Les diferències entre sexes més significatives s'obtenen en la son lenta profunda (SWS), amb increments en les dones i disminucions en els homes. Aquest resultat és similar a les dades descrites prèviament per Lindberg i cols (2002) en l'únic article que avalua les diferències entre sexes en el EEG de son de subjectes sans després de

l'administració d'antipsicòtics. A diferència dels nostres resultats, aquests autors també registren increments en el SWS en els homes i una disminució de la fase 2 mentre en les dones es registre un increment d'estadi 2. Existeixen diferències metodològiques importants entre els dos estudis en quant a la dosi (10mg vs 5mg en el nostre estudi) i pauta d'administració (ells 18.00, nosaltres 8 del matí). El punt crític diferencial entre ambdós estudis però, és el mètode d'anàlisi, ja que les dades en l'estudi del grup de Lindberg van ser analitzades només mitjançant un test de mesures repetides, test de t, mentre que nosaltres les vam analitzar amb un model general lineal, que és un anàlisi molt més específic per avaluar la interacció sexe per fàrmac.

D'altra banda, tot i que en el nostre estudi les dones presentaven un pes menor que els homes, això no va implicar diferències en els paràmetres farmacocinètics. Es més, el fet que l'anàlisi de tots els factors farmacocinètics analitzats en la nostra mostra no mostrés diferències entre sexes en el patró farmacocinètic plasmàtic de l'olanzapina, reforça la idea de que les diferències entre sexes en els efectes de l'olanzapina en el SWS són un autèntic efecte farmacodinàmic.

Tan els estudis realitzats en humans com en animals indiquen que el SWS està regulat pels receptors serotoninèrgics 5HT₂ (Dugovicet, 1989). Aquest receptor es subdivideix en tres subtipus específics: 5HT_{2A}, 5HT_{2B}, 5HT_{2C}. L'efecte de l'increment de SWS amb l'administració d'olanzapina s'ha associat amb el seu antagonisme en els receptors 5HT₂, més concretament al 5HT_{2c} (Sharpley i cols., 2001). El gen d'aquest receptor 5HT_{2c} es localitza en el cromosoma X i conté polimorfisme C-G al codó 23 (nucleòtid 68) on la serina reemplaça la cisteïna en un 15%. Donat la localització en el cromosoma X, els homes només poden ser Ser o Cys, mentre que les dones poden mostrar les variants al·lèliques Ser-Ser, Ser-Cys o Cys-Cys. Sembla ser que l'al·lel Ser₂₃ és més actiu i augmenta el recanvi metabòlic de NA, mecanisme que podria

afectar el son (Lappalainen et al., 1999). És a dir, que aquesta diferència al·lèlica entre homes i dones, podia ser la responsable de les diferències farmacodinàmiques amb l'olanzapina observades en el SWS.

Les neurones del nucli dorsal del rafe (DR) que contenen els receptors 5-HT_{2A} serotoninèrgics són interneurons GABAèrgiques. El sistema inhibitori GABAèrgic té un paper important en l'inici i manteniment del son SWS. S'han publicat diferències entre sexes en l'espectre EEG de son amb l'administració de drogues que interactuen amb el receptor GABA_A així com diferències en els nivells GABAèrgics corticals (Dijk, 2010). A banda dels sistemes serotoninèrgics i GABAèrgics, també estan descrites diferències entre sexes en el sistema dopaminèrgic (Cosgrove, 2007). L'olanzapina, pot modificar el son interaccionant amb diferents receptors d'aquests sistemes.

Donat l'anàlisi espectral del EEG de son extens realitzat en aquesta investigació, esperàvem trobar més diferències en el son entre sexes després de l'administració farmacològica .

Probablement s'haurien de realitzar més estudis addicionals amb diferents dosis i controlant sobretot les diferents fases del cicle menstrual per a detectar i interpretar les diferències.

En pacients esquizofrènics però, les disminucions en el SWS i en l'activitat delta del EEG de son s'han associat a una pobre evolució clínica i amb alteracions en el funcionament cognitiu (Gorder i cols., 2006). Per tant, l'augment de SWS observat en les dones en el nostre estudi després de l'administració d'olanzapina, reflexaria un major efecte terapèutic, consistent amb el millor pronòstic clínic que habitualment presenten les dones.

Tot i que són necessaris estudis addicionals en pacients esquizofrènics per replicar aquests resultats, les diferències farmacodinàmiques en els efectes de l'olanzapina en el son entre homes i dones trobades en aquest estudi, semblen suggerir que les guies de prescripció de medicació antipsicòtica haurien de diferenciar entre ambdós sexes, especialment en relació als seus efectes sobre el son.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

C1

La realització de l'estudi en individus sans i controlat amb placebo permet determinar l'efecte real dels efectes dels antipsicòtics sobre el son en absència de factors de confusió associats (com la condició patològica, els efectes adversos o la influència en els símptomes psicòtics, entre d'altres).

- 1) L'administració de dosis úniques al matí d'olanzapina, risperidona i haloperidol provoca canvis objectius en el EEG de son, visibles en la macroestructura del son a partir de les dades polisomnogràfiques (8 hores de registre nocturn) analitzades mitjançant mètodes d'anàlisi visual tradicional (Rechtschaffen and Kales).
- 2) L'administració de dosis úniques al matí d'olanzapina, risperidona i haloperidol provoca canvis en la microestructura i dinàmica del son, objectivats mitjançant mètodes d'anàlisis quantitativs addicionals d'anàlisi espectral, més sensitius per avaluar l'efecte farmacològic d'un compost en el EEG de son.
- 3) L'administració de dosis úniques al matí d'olanzapina, risperidona i haloperidol provoca diferències entre els efectes subjectius sobre el son després de l'administració dels diferents antipsicòtics.
- 4) S'observen clares diferències entre els efectes dels diferents antipsicòtics en el son segons el perfil neurobioquímic de cada compost. Traspassats a la pràctica clínica habitual, aquests resultats mostren una avantatge addicional a l'eficàcia antipsicòtica dels diferents neuroleptics, ja que ofereix la possibilitat de seleccionar un neuroleptic específic en els pacients psiquiàtrics segons l'alteració de son que presentin.

Per tant, l'administració de dosis úniques al matí d'olanzapina, risperidona i haloperidol en subjectes sans mostra canvis significatius en el son, diferents segons el perfil neuroquímic de cada compost, inclús 15 hores després de la seva administració.

C2

Tot i la relació dels diferents canvis EEG després de l'administració dels antipsicòtics en el continu vigília- son de 24 hores, els resultats obtinguts en el present treball després de l'administració d'olanzapina, no permeten afirmar que les variables EEG en son i en vigília es comportin com a marcadors de la homeòstasi del son en condicions experimentals farmacològiques.

C3

L'administració d'olanzapina al matí en subjectes sans mostra diferències significatives entre sexes en els paràmetres del son.

REFERÈNCIES

REFERÈNCIES

- Achermann, P. & Borbely, AA. Mathematical models of sleep regulation. *Front. Biosci.* 2003; 8:683–693 .
- Aserinsky E; Kleitman N. Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*, 1953; 118: 273-274.
- Aston-Jones G, Bloom FE. Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci.* 1981; (1):876-886.
- Benca RM, Obermeyer WH, Thisted RA, Gillin JC: Sleep and psychiatric disorders: a meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*, 1992; 49: 651-668.
- Benson KL, Sullivan EV, Lim KO, et al. Slow wave sleep and CT measures of brain morphology in schizophrenia. *Psychiatry Res* 1996;60:125–34.
- Benson KL. Sleep in schizophrenia. *Sleep Med. Clin.* 2008; 3, 251–260.
- Berridge CW, España RA. Synergistic sedative effects of noradrenergic alpha(1)- and beta- receptor blockade on forebrain electroencephalographic and behavioral indices. *Neuroscience*, 2000; 99:495-505.
- Berson, D. M., Dunn, F. A. & Takao, M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*, 2002; 295: 1070–1073.
- Beersma DGM. Models of human sleep regulation. *Sleep Medicine Reviews* 1998; 2(1):31-43.
- Boutrel B, Monaca C, Hen R et al. Involvement of 5-HT1A receptors in homeostatic and stress-induced adaptive regulations of paradoxical sleep: studies in 5-HT1A knock-out mice. *JNeurosci* 2002; 22:4686-4692.
- Boutrel and Koob, What keeps us awake: the Neuropharmacology of Stimulants and Wakefulness-Promoting Medications. *Sleep*, 2004 , 27 (6): 1181-1194.
- Borbély AA, Baumann F, Brandeis D et al. Strauch I, Lehmann D: Sleep deprivation: effect on sleep stages and EEG power density in man. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 1981; 51: 483- 493.

- Borbély AA: A two process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol* 1982; 1: 195-204.
- Borbély AA, Mattmann P, Loepfe M, Strauch I, Lehmann D: Effect of benzodiazepine hypnotics on all-night sleep EEG spectra. *Hum Neurobiol* 1985; 4:189–194.
- Borbély AA; Trachsel L; Tobler I Effect of ritanserin on sleep stages and sleep EEG in the rat. *European journal of pharmacology* 1988;156(2):275-8.
- Cajochen C, Bunnager DP, Krauchi K et al. Power density in Theta/Alpha frequencies of the waking EEG progressively increases during sustained wakefulness. *Sleep*, 1995, 18(10): 890-894.
- Cid-Pellitero, Garzón M. El sistema de neurotransmisión hipocretinérgico/orexinérgico en la regulación de los estados de vigilia y sueño *Neurologia* 2007;45:482-490.
- Chamberlin NL. et al. Effects of adenosine on GABAergic synaptic inputs to identified ventrolateral preoptic neurons. *Neuroscience*. 2003; 119, 913–918.
- Chou TC. et al. Critical role of dorsomedial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. *J. Neurosci*. 2003; 23, 10691–10702.
- Chouinard S, Poulin J, Stip E, Godbout R. Sleep in untreated patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Bull*. 2004;30(4):957-67.
- Cohrs S, Rodenbeck A, Guan Z, Pohlmann K, Jordan W, Meier A, Rüther E. Sleep-promoting properties of quetiapine in healthy subjects. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004 ; 174(3):421-9.
- Cohrs S, Meier A, Neumann AC, Jordan W, Rüther E, Rodenbeck A. Improved sleep continuity and increased slow wave sleep and REM latency during ziprasidone treatment: a randomized, controlled, crossover trial of 12 healthy male subjects. *J Clin Psychiatry*. 2005 66(8):989-96.
- Cohrs S. Sleep disturbances in patients with schizophrenia: impact and effect of antipsychotics. *CNS Drugs* 2008; 22, 939–962.
- Cosgrove P. Evolving Knowledge of Sex Differences in Brain Structure, Function and Chemistry *Biol Psychiatry*. 2007; 15; 62(8): 847–855.
- De Lecea L, Kilduff TS, Peyron C et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci*. 1998; 95:322-327.

- Dijk DJ. Sex differences and the effect of gaboxadol and zolpidem on EEG power spectra in NREM and REM sleep. *J Psychopharmacol* 2010; 24:1613–1618.
- Dugovic C, Wauquier A, Leysen JE, Marrannes R, Janssen PA. Functional role of 5-HT₂ receptors in the regulation of sleep and wakefulness in the rat. *Psychopharmacology* 1989; 97:436-442.
- Dzolja MR, Ukponmwan OE, Saxena PR. 5-HT₁-like receptor agonists enhance wakefulness. *Neuropharmacology* 1992; 31:623-633.
- España RA, Baldo BA, Kelley AE. Wake-promoting and sleep-suppressing actions of hypocretin (orexin): basal forebrain sites of action. *Neuroscience* 2001; 106:699-715.
- Feenstra MG, Botterblom MH, Mastenbroek S. Dopamine and noradrenaline efflux in the prefrontal cortex in the light and dark period: effects of novelty and handling and comparison to the nucleus accumbens. *Neuroscience* 2000; 100:741-748.
- Ferrarelli F., Huber R., Peterson, MJ., et al. Reduced sleep spindle activity in schizophrenia patients. *Am. J. Psychiatry* 2007 164, 483–492.
- Finelli LA, Baumann H, Borbély AA, Achermann P: Dual electroencephalogram markers of human sleep homeostasis: correlation between theta activity in waking and slow-wave activity in sleep. *Neuroscience* 2000; 101: 523-529.
- Fish LR, Gilligan MT, Humphries AC, et al. 4-luorosulfonylpiperidines: selective 5-HT_{2A} ligands for the treatment of insomnia. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005 ; 15:3665-9.
- Flórez J (2003): Fármacos antipsicóticos neurolépticos en Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A (eds), *Farmacología Humana* 4ª edición. Masson, Barcelona pp 563-577.
- Freud S. Die Traumdeutung. Vienna: Deuticke, 1900.
- Fuller PM, Saper CB, Lu J The pontine REM switch: past and present *J Physiol.* 2007: 735–741.
- Gallopín T, Fort P, Eggemann E et al. Identification of sleep-promoting neurons *in vitro*. *Nature* 2000, 404: 992–995.

- Ganguli R, Reynolds F, Kupfer DJ. Electroencephalographic sleep in young never-medicated schizophrenics. *Archives of General Psychiatry*,44:36-44, 1987.
- Gillin JC, van Kammen DP, Post R, Bunney WE: Effects of prolonged administration of pimozide on sleep-EEG patterns in psychiatric patients. *Community Psychopharmacol* 1977; 1:225–232.
- Goder, R., Aldenhoff, J. B., Boigs et al. Delta power in sleep in relation to neuropsychological performance in healthy subjects and schizophrenic patients. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 2006,(18): 529–535.
- Hinze-Selch D, Mullington J, Orth A, et al. Effects of clozapine on sleep: a longitudinal study. *Biol Psychiatry* 1997;42:260–266.
- Hillarp NA, Fuxe K, Dahlstrom A. Demonstration and mapping of central neurons containing dopamine, noradrenaline, and 5-hydroxytryptamine and their reactions to psychopharmacology. *Pharmacol Rev.*1966; 18:727-741.
- Hughlings-Jackson. *The Selected Writings of John Hughlings Jackson*. Edited by Taylor J. New York, Basic Books, 1958.
- Isaac SO, Berridge CW. Wake-promoting actions of dopamine D1 and D2 receptor stimulation. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307:386- 394.
- Johnston, GA. GABA(A) Receptor Channel Pharmacology. *Current Pharmaceutical Design.* 2005;11(15):1867-85.
- Jouvet M. The role of monoamines and acetylcholine-containing neurones in the regulation of the sleep-waking cycle. *Ergebn Physiol* 1972; 64:166–307.
- Kajimura N, Kato M, Okuma T, et al. Relationship between delta activity during all-night sleep and negative symptoms in schizophrenia: a preliminary study. *Biol Psychiatry* 1996; 39(6): 451–4.
- Kleinlogel Horst Effects of the Selective α_1 -Adrenoceptor Blocker Prazosin on EEG Sleep and Waking Stages in the Rat. *Neuropsychobiology* 1989; 21:100-103.
- Keshavan MS, Reynolds CF, and Kupfer D J. Electroencephalographic sleep in schizophrenia: a critical review. *Compr. Psychiatry* 1990; 31, 34–47.

- Keshavan MS, Reynolds CF III, Ganguli R, et al. Electroencephalographic sleep and cerebral morphology in functional psychosis: a preliminary study with computed tomography. *Psychiatry Res* 1991; 39:293–301.
- Keshavan MS, Reynolds CF III, Miewald JM, et al. A longitudinal study of EEG sleep in schizophrenia. *Psychiatry Res* 1996; 59: 203-211.
- Keshavan MS, Reynolds CF III, Miewald JM, et al. Delta sleep deficits in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1998;55:443–8
- Keshavan, M. S., Diwadkar, V. A., Montrose et al. Premorbid characterization in schizophrenia: the Pittsburgh High Risk Study. *World Psychiatry* 2004; 3:163–168.
- Kilduff TS, Peyron C. The hypocretin/orexin ligand-receptor system: implications for sleep and sleep disorders. *Trends Neurosci.* 2000; 23:359-65.
- Ko EM, Estabrooke IV, McCarthy M, Scammell TE. Wake-related activity of tuberomammillary neurons in rats. *Brain Res* 2003; 992: 220-6.
- Koella WP, Feldstein A, Czicman JS. The effect of *para*-chlorophenylalanine on the sleep of cats. *Electroencephalography Clin Neurophysiol* 1968; 25: 481–490.
- Kraepelin E. Über Sprachstörungen im Traume. Leipzig:Engelmann Verlag, 1906.
- Kupfer DJ, Wyatt RJ, Scott J et al. Sleep disturbance in acute schizophrenic patients. *AM J Psychiatry.* 1970;126:1213-1233.
- Lappalainen J, Long JC, Virkkunen M, et al. 1999. HTR2C Cys23 Ser polymorphism in relation to CSF monoamine metabolite concentrations and DSM-III-R psychiatric diagnoses. *Biol Psychiatr* 46: 821–826.
- Lauer CJ, Schreiber W, Pollmächer T, et al. Sleep in schizophrenia: a polysomnographic study on drug-naive patients. *Neuropsychopharmacology* 1997;16:51–60.
- Lee JH, Woo JI, Meltzer HY. Effects of clozapine on sleep measures and sleep-associated changes in growth hormone and cortisol in patients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 2001;103:157–66.
- Lee MG, Hassani OK, and Jones BE. Discharge of identified orexin/hypocretin neurons across the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 2005(25): 6716–6720.

- Lin JS, Roussel B, Akaoka H et al. Role of catecholamines in the modafinil and amphetamine induced wakefulness, a comparative pharmacological study in the cat. *Brain Res.* 1992, 25; 591(2):319-26.
- Lin JS, Y Hou K. Sakai and M. Jouvet Histaminergic descending inputs to the mesopontine tegmentum and their role in the control of cortical activation and wakefulness in the cat. *J. Neurosci* 1996;16:1523-37.
- Lindberg N, Virkkunen M, Tani P, et al . 2002. Effect of a single-dose of olanzapine on sleep in healthy females and males. *Int Clin Psychopharmacol* 17: 177–184.
- Lu, J., Greco, M. A., Shiromani, P. & Saper, C. B. Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *J. Neurosci.* 2000 ;(20): 3830–3842.
- Lu, J. *et al.* Contrasting effects of ibotenate lesions of the paraventricular nucleus and subparaventricular zone on sleep–wake cycle and temperature regulation. *J. Neurosci.* 2001; 21:4864–4874 .
- Luthringer R, Staner L, Noel N et al. A double-blind, placebo-controlled, randomized study evaluating the effect of paliperidone extended-release tablets on sleep architecture in patients with schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol.* 2007 , 22(5):299-308.
- Maixner S, Tandon R, Eiser A et al. Effects of antipsychotic treatment on polysomnographic measures in schizophrenia: a replication and extension. *Am J Psychiatry* 1998; 155: 1600-1602.
- Manoach DS and Stickgold R. Does abnormal sleep impair memory consolidation in schizophrenia? *Frontiers in Human Neuroscience*; 2009: (3)1-8.
- Morrens M, Wezenberg E, Verkes RJ, Hulstijn W, Ruigt GSF, Sabbe BGC: Psychomotor and memory effects of haloperidol, olanzapine, and paroxetine in healthy subjects after short-term administration. *J Clin Psychopharmacol* 2007; 27(suppl 1):15–22.
- McCarley RW. Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Med.* 2007 ;8(4):302-30.
- McGinty D, Harper RW. Dorsal raphe neurones: depression of firing during sleep in cats. *Brain Res* 1976; 101: 569–575.

- McGinty D and Szymusiak R. The sleep-wake switch: A neuronal alarm clock. *Nat Med.* 2000; 6:510-511.
- Mignot E, Taheri S, Nishino S. Sleeping with the hypothalamus: emergent therapeutic targets for sleep disorders. *Nat Neurosci Suppl.* 2002; 5:1071-5.
- Mochizuki T, Yamatodani A, Okakura K, Horii A, Inagaki N, Wada H. Circadian rhythm of histamine release from the hypothalamus of freely moving rats. *Physiol Behav.* 1992; 51(2):391-4.
- Monti JM, Jantos H. The roles of dopamine and serotonin, and of their receptors, in regulating sleep and waking. *Prog Brain Res* 2008; 172: 625-46.
- Monti JM, Jantos H, Ponzoni A, Monti D. Sleep and waking during acute histamine H3 agonist BP 2.94 or H3 antagonist carboperamide (MR 16155) administration in rats. *Neuropsychopharmacology* 1996; 15:31-35.
- Morrens M, Wezenberg E, Verkes RJ et al. Psychomotor and memory effects of haloperidol, olanzapine, and paroxetine in healthy subjects after short-term administration. *J Clin Psychopharmacol* 2007; 27(suppl 1):15-22.
- Morrison AR. Paradoxical sleep without atonia. *Arch Ital Biol.* 1988;126:275-289.
- Morrison JH, Foote SL. Noradrenergic and serotonergic innervation of cortical, thalamic, and tectal visual structures in Old and New World monkeys. *J Comp Neurol.* 1986; 243:117-138.
- Müller MJ, Rossbach W, Mann K, et al. Subchronic effects of olanzapine on sleep EEG in schizophrenic patients with predominantly negative symptoms. *Pharmacopsychiatry* 2004;37(4):157-62.
- Nelson LE, Lu J, Guo T, Saper CB, Franks NP, Maze M. The alpha2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine converges on an endogenous sleep-promoting pathway to exert its sedative effects. *Anesthesiology* 2003; 98: 428-36
- Neylan TC, van Kammen DP, Kelly ME, Peters JL: sleep in schizophrenic patients on and off haloperidol therapy: Clinically stable vs relapsed patients. *Arch Gen Psychiatry* 1992; 49:643-649.

- Nishino S, Mao J, Sampathkumaran R, Shelton J. Increased dopaminergic transmission mediates the wake-promoting effects of CNS stimulants. *Sleep Res Online* 1998;49-61.
- Nishino S, Ripley B, Mignot E, et al. CSF hypo-cretin-1 levels in schizophrenia and controls:relationship to sleep architecture. *Psychiatry Res* 2002;110:1–7.
- Nofzinger EA, van Kammen DP, Gilbertson MW, et al. Electroencephalographic sleep in clinically stable schizophrenic patients: two-weeks versus six-weeks neuroleptic free. *Biol Psychiatry* 1993;33:829–35.
- Orzack, M.H., Hartman, E.L., Kornetsky, C., The relationshipbetween attention and SWS in chronic schizophrenia. *Psychopharmacol.* 1977; Bull. 3:59– 61.
- Pace-Schott EF, Hobson JA. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat Rev Neurosci.* 2002; 3:591-605.
- Panula P, Pirvola U, Auvinen S, Airaksinen MS. Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience* 1989;28:585-610.
- Porkka-Heiskanen T, Alanko L, Kalinchuk A, and Stenberg D .Adenosine and sleep. *Sleep Med Rev* 2002; 6: 321-332.
- Portas CM, Bjorvatn B, Ursin R. Serotonin and the sleep-wake cycle: special emphasis on microdialysis studies. *Progr Neurobiol* 2000; 60: 13–35.
- Poulin, J., Daoust, A.-M., Forest, G., Stip, E., Godbout, R., 2003. Sleep architecture and its clinical correlates in first episode and neuroleptic-naive patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 62, 147– 153.
- Rechtschaffen A, Kales A (1968). A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Washington, DC:U.S. Government Printing Office.
- Reinoso-Suárez F, De Andrés I, Rodrigo-Angulo ML, Garzón M. Brain structures and mechanisms involved in the generation of REM sleep. *Sleep Med Rev.* 2001; 5: 63-7.
- Riemann D, Hohagen F, Krieger S, et al. Cholinergic REM induction test: muscarinic supersensitivity underlies polysomnographic findings in both depression and schizophrenia. *J Psychiatr Res* 1994;28(3):195–210.

- Saletu B, Frey R, Krupka M, Anderer P, Grünberger J. Sleep laboratory studies on the single-dose effects of serotonin reuptake inhibitors paroxetine and fluoxetine on human sleep and awakening qualities. *Sleep*. 1991; 14(5):439-47.
- Salin-Pascual RJ, Herrera-Estrella M, Galicia-Polo L, Lurrabaquio MR. Olanzapine acute administration in schizophrenic patients increases delta sleep and sleep efficiency. *Biol Psychiatry* 1999; 46: 141-143.
- Salin- Pascual R J, Herrera -Estrella M, Galic a-Polo L, Rosas M,Brunner E (2004). Low delta sleep predicted a good clinical response to olanzapine administration in schizophrenic patients.*Rev Invest Clin* 56:345– 350.
- Saper CB, Chou TC, and Scammell TE . The sleep switch: Hypothalamic control of sleep and wakefulness.*Trends Neurosci* 2001; 24:726-731.
- Saper CB, Scammell TE, and Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* 2005 ; 437:1257-1263.
- Sharpley AL, Vassallo CM, Cowen PJ. Olanzapine increases slow- wave sleep: Evidence for blockade of central 5- HT 2C receptors in vivo. *Biol Psychiatry* 2000; 47: 468-470.
- Sharpley AL, Vassallo CM, Pooley EC, et al. 2001. Allelic variation in the 5-HT2C receptor (HT2RC) and the increase in slow wave sleep produced by olanzapine. *Psychopharmacology* 153: 271–272.
- Sharpley AL, Bhagwagar Z, Hafizi S, Whale WR, Gijsman HJ,Cowen PJ Risperidone augmentation decreases rapid eye movement sleep and decreases wake in treatmentresistant depressed patients. *J Clin Psychiatry* 2003; 64:192–196.
- Schwartz JC, Arrang JM, Garbarg M, Pollard H, Ruat M.Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol Rev*. 1991 ;71(1):1-51.
- Seeman P. Dopamine Receptors: clinical Correlates. In: Bloom FE, Kupfer dj, eds. *Psychopharmacology : the fourth generation of progress*. 4th ed. New York: Raven;1995:295-302.
- Stahl SM (2000). Antipsychotic agents. In: *Essential Psychopharmacology. Neuroscientific Basis and Practical Applications*. Second edition. Cambridge University Press, pp 401-458.

- Staner L, Granier LA, Vandenhende E, Macher JPR, Luthringer R: Repeated administration of olanzapine differentially affects slow wave sleep, sleep continuity and day-time sedation: a placebo-controlled study of morning versus evening dosing in healthy volunteers (abstract). *Eur Neuropsychopharmacol* 2002; 12:S326.
- Szymusiak, R., Alam, N., Steininger, T. L. & McGinty, D. Sleep-waking discharge patterns of ventrolateral preoptic/anterior hypothalamic neurons in rats. *Brain Res.* 1998; 803: 178–188.
- Tandon R, Shipley JE, Taylor S, et al. Electroencephalographic sleep abnormalities in schizophrenia: relationship to positive/negative symptoms and prior neuroleptic treatment. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:185–94.
- Tandon R: Effects of atypical antipsychotics on polysomnographic measures in schizophrenia. *Bibl Psychiatr* 1997; 167: 219–222.
- Taylor SF, Tandon R, Shipley JE, Eiser AS. Effect of neuroleptic treatment on polysomnographic measures in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1991; 30: 904-912.
- Thannickal TC, Moore RY, Nienhuis R, Ramanathan L, Gulyani S, Aldrich M, et al. Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron* 2000; 27: 469-74.
- Thaker GK, Wagman AMI, Tamminga CA. Sleep polygraphy in schizophrenia: methodological issues. *Biol Psychiatry* 1990;28:240–6.
- Tekell JL, Hoffman R, Hendrickse W, et al. High frequency EEG activity during sleep: characteristics in schizophrenia and depression. *Clin EEG Neurosci* 2005;36(1):25–35.
- Torsvall, L., Åkerstedt, T. Sleepiness on the job: continuously measured EEG changes in train drivers. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1987; 66(Suppl.6): 502–511.
- Törk I. Anatomy of the serotonergic system. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 600: 9-34.
- Touyz SW, Saayman GS, Zabow A. A psychophysiological investigation of the long-term effects of clozapine upon sleep patterns of normal young adults. *Psychopharmacology* 1978; 31;56(1):69-73.

- Vertes, R. & Kocsis, B. Brainstem-diencephaloseptohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience* 1997; 81: 893–926 .
- Ursin R. Serotonin and sleep. *Sleep Medicine Reviews*, 2002; 6(1): 57–69.
- Van Kammen DP, van Kammen WM, Peters J, et al. Decreased slow-wave sleep and enlarged lateral ventricles in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1988;1:265–71.
- Warrington SJ . Ethical aspects of research in healthy volunteers. In: O’Grady J, Joubert PH (eds) *Handbook of phase I/II clinical drug trials*. CRS Press, Boca Raton, 1997; 103–110
- Werth E, Dijk DJ, Achermann P, Borbély AA: Dynamics of the sleep EEG after an early evening nap: experimental data and simulations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1996; 271: 501-510.
- Wetter TC, Lauer CJ, Gillich G, Pollmächer T. The electroencephalographic sleep pattern in schizophrenic patients treated with clozapine or classical antipsychotic drugs. *J Psychiatry Res* 1996; 30: 411-419.
- Yang C and Winkelman JW. Clinical significance of sleep EEG abnormalities in chronic schizophrenia. *Schizophr. Res.*2006;.82:251–260.
- Zarcone VP, Benson KL. BPRS symptom factors and sleep variables in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 1997; 66: 111 – 120.